

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Klinik und Poliklinik für Gynäkologie

Direktorin: Prof. Dr. med. Barbara Schmalfeldt

Koprävalenz von Infektionen der Zervix und des Oropharynx mit HPV-high risk Typen bei Frauen mit zervikalen Dysplasien

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Julia Sophia Nitz (geb. Breuer)
aus Ulm

Hamburg 2022

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 16.09.2024**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

**Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: PD Dr. Katharina Harms-
Effenberger**

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. Linn Wölber

Inhaltsverzeichnis	
1. Artikel in der Originalversion	4
2. Einleitung	11
3. Material und Methoden	13
3.1 Studiendesign	13
3.2 Patientenkollektiv	14
3.3 Klinische Proben	14
3.4 HPV-Detektion und Genotypisierung	14
3.5 Fragebogen	15
3.6 Datenbank und Datenbankmanagement	15
3.7 Kosten und Sponsoring	15
4. Ergebnisse	16
4.1 Studienkohorte und Zervikale HPV-Erkennung	16
4.2 Orale HPV-Status	16
4.3 Auswertung des Fragebogens	17
5. Diskussion	17
6. Literaturverzeichnis	23
7. Abkürzungsverzeichnis	28
8. Kurzfassung Deutsch	29
9. Kurzfassung Englisch	30
10. Erklärung des Eigenanteils an der Publikation	31
11. Danksagung	32
12. Lebenslauf	33
13. Eidesstattliche Versicherung	34

1. Artikel in der Originalversion

ORIGINAL RESEARCH ARTICLES: CERVIX AND HPV

Oral Human Papillomavirus in Women With High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia

Linn Woelber, MD,¹ Julia Breuer, MD,¹ Thomas Meyer, PhD,² Eik Vettorazzi,³ Katharina Prieske, MD,¹
Inga Bohlmann, MD,¹ Chia-Jung Busch, MD,⁴ Ingo Teudt, MD,^{5,6} Oliver Brummer, MD,^{7,8}
Volkmär Mueller, MD,¹ Barbara Schmalfeldt, MD,¹ and Donata Grimm, MD¹

(J Low Genit Tract Dis 2017;21: 00–00)

Objective: This study was designed to investigate the co-prevalence of cervical and oropharyngeal human papillomavirus (HPV) infection in patients with HPV-related high-grade disease of the uterine cervix (high-grade squamous intraepithelial lesion [HSIL]).

Materials and Methods: In a prospective cohort study, women with abnormal cervical cytology admitted to our colposcopy units received HPV testing of the uterine cervix and the oropharynx via smear. From a subset of patients, oral lavage was collected to compare detection rates of HPV DNA between lavage and swab. Patients with confirmed high-risk HPV (HR-HPV)-positive HSIL of the cervix were further investigated. Sexual behavior and lifestyle factors were documented with a standardized questionnaire.

Results: Two hundred thirty-five women were included in the study. Of the 235 women, 135 (57.5%) were cervically HR-HPV positive with histologically confirmed high-grade cervical intraepithelial lesion (median [range] age = 30 [21–45] years). Of these, only 6 (4.4%) also had a positive oral specimen. In 3 (50%) of the 6 cases, the same HPV type was detected in oral and cervical samples (HPV 16, 35, and 45). Oral HPV detection was not higher when combining swab and lavage compared with swab alone. A relation between sexual behavior and oral HPV detection could not be demonstrated.

Conclusions: Oral HPV prevalence in women with cervical HPV infection and HSIL is low. Simultaneous testing of oropharyngeal and cervical HPV infection does not seem promising as future screening strategy.

Key Words: HPV, sexual transmitted disease, oropharyngeal cancer, CIN, HSIL

¹Department of Gynaecology and Gynaecologic Oncology, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Germany; ²Department of Medical Microbiology, Virology and Hygiene, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Germany; ³Department of Medical Biometry and Epidemiology, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany; ⁴Department of Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery and Oncology, University Medical Centre Hamburg-Eppendorf, Germany; ⁵Department of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, Asklepios Klinik Hamburg Altona, Germany; ⁶HNO-in-Altona, Private Otorhinolaryngology Praxis, Hamburg, Germany; ⁷Tagesklinik Altonaer Strasse, Private Gynaecology Praxis, Hamburg, Germany; and ⁸Department of Gynaecology and Gynaecologic Oncology, Medical Center Asklepios Altona, Hamburg, Germany

Correspondence to: Donata Grimm, MD, Department of Gynaecology and Gynaecologic Oncology, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Martinistraße 52, 20246 Hamburg, Germany. E-mail: d.grimm@uke.de

This work was supported by Greiner Bio-One GmbH (Frickenhäusen, Germany). Human papillomavirus polymerase chain reaction test were provided at no costs without restriction to the study protocol

L.W. received study support from MSD, GSK, Medac oncology, and Vaccibody and honoraria/travel support from Roche, Medac, Jenapharm, MSD. T.M. received honoraria from Roche, Cepheid. K.P. received honoraria from Astra Zeneca. C.J.B. received honoraria from BMS. I.T. received study support from Asklepios Klinik Hamburg Altona. O.B. received study support from Asklepios Klinik Hamburg Altona and honoraria from Roche, MSD. B.S. received honoraria from Roche, Astra Zeneca. D.G. received honoraria from Roche, ESOP.

All authors disclose any financial and personal relationships that could inappropriately influence (bias) the work. The authors have declared they have no conflicts of interest.

L.W. and J.B. contributed equally.

Ethical approval was obtained from the local ethical board (reference number PV438). Supplemental digital content is available for this article. Direct URL citations appear in the printed text and are provided in the HTML and PDF versions of this article on the journal's Web site (www.jlgt.com).

© 2017, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology
DOI: 10.1097/LGT.0000000000000313

Human papillomavirus (HPV) is the most common sexually transmitted infection in developed countries.^{1,2} Lifetime risk of any genital HPV infection in women is approximately 75%.³ Recent research showed an HPV prevalence of 38.1% in 20- to 25-year-old women in Germany with HPV 16 (19.5%), being the most prevalent genotype.⁴ Most infections resolve spontaneously. From 10% to 40% infections persist and can lead to high-grade squamous intraepithelial lesions (HSILs). If left untreated, HSIL can progress to cervical cancer (CC) in 12% to 70%.⁵

The same HPV types that infect genital mucosa can also infect the mouth and throat.⁶ For the past years, there has been a steady decline (50%) in the number of tobacco- and alcohol-related HPV-negative (HPV-) oropharyngeal squamous cell carcinomas (OSCC) of the upper respiratory tract but an increase of OSCC associated with HPV in younger patients.^{7–10} Incidence of HPV positive (HPV+) OSCC has risen 225% between 1988 and 2004 corresponding to a current incidence of 2.6/100,000 cases per year. Anatomic sites of HPV+ OSCC are mostly tonsils and the base of tongue. At this point, 25% to 60% of OSCC are estimated to be associated with an oncogenic HPV infection.¹¹ In more than 90% of those, HPV 16 is detected.¹¹

Worldwide oral HPV prevalence in healthy individuals is highly variable.¹² A recent systematic review of 18 studies analyzed oral HPV DNA in 4,581 cancer-free subjects. In 1.3% of healthy subjects, oral HPV 16 was detected, 3.5% had carcinogenic HPV, and 4.5% were positive for any HPV (age range: 3–85 years). Men and women thereby showed the same prevalence with 4.6% versus 4.4%, respectively. Human papillomavirus 16 was again the most frequently detected type.¹² Because HPV is nowadays the most common cause for OSCC, oral HPV infection has become a focus of intensive research.^{13,14} Because it is well known that sexual behavior has an impact on the risk for CC, it might also have an influence on the risk for developing OSCC.^{15–17} Recent research suggests that certain sexual practices, such as oral sex (oral-genital contact) and others (oral-anal contact) as well as certain sexual behavior (e.g., many sexual partners), might facilitate HPV to extend to the oral cavity and play a role in oral carcinogenesis.^{15,18}

Still very little is known about the transmission of HPV to the oral cavity and the conditions for a persistent oropharyngeal infection and malignant transformation. We therefore investigated oral HPV prevalence in patients with HR-HPV-positive (HR-HPV+) HSIL under the assumption that patients with persistent genital HPV infection might be more susceptible for persistent oral HPV infection dependent on sexual behavior.

MATERIALS AND METHODS

Patients

Between February 2014 and June 2015, a prospective cohort study of the University Medical Center Hamburg-Eppendorf (UKE) in collaboration with the Medical Center Hamburg Altona

(AK) was performed to determine the prevalence of oropharyngeal HPV infection in women with HR-HPV+ HSIL. Women with abnormal cervical smear admitted to the colposcopy units of both clinics received HPV testing of the uterine cervix and the oropharynx with a swab. In the UKE cohort, additional oral lavage was performed. Inclusion criteria for further analysis were HR-HPV+ HSIL (histologically verified with targeted biopsy or conization) and age between 18 and 45 years. Exclusion criteria were the following: other not HPV-related diseases of the vulva, vagina and cervix, invasive disease of the cervix, pregnancy, and previous tonsillectomy. All participants were interviewed with a newly designed standardized questionnaire focusing on demographic data and potential risk factors for oral and/or cervical HPV infection.

Ethical approval was obtained from the local ethical board (reference number PV438). Written informed consent was gathered from each patient before participation in the study.

Clinical Samples

Human papillomavirus swabs of the cervix were taken as in daily routine from ectocervix and endocervix by using a cytobrush (Gynobrush; Heinz Herenz, Hamburg, Germany). For tonsillar sampling, the PapCone device was used (Otto Bock PUR Life Science GmbH, Duderstadt, Germany) to collect superficial scrapes of the tonsillar mucosa by performing 5 to 10 complete backward and forward brushes at each side (right tonsil and left tonsil). Cell material from both swabs was suspended separately in SurePath preservative fluids (Becton Dickinson Co, Franklin Lakes, NJ) and stored at 4°C or was transferred to vials with viral transport medium. From a subset of patients ($n = 71$), oral lavage (mouth wash) was collected to compare detection rates of HPV DNA between lavage and brush. For that purpose, patients gargled with 10 mL saline (0.9% NaCl solution) for 60 seconds, and the resulting suspension was filled in a Falcon-tube and stored at 4°C for up to 5 days until further examination.

Human Papillomavirus Detection and Genotyping

All samples were tested for HPV by the PapilloCheck (Greiner Bio-One [GBO]), which detects and differentiates 24 HPV types. DNA was isolated from SurePath cell suspensions or mouth washes using the PapilloCheck extraction kit. Polymerase chain reaction (PCR) was performed with E1 primers that amplify a 350bp fragment, subsequently analyzed by array hybridization according to the manufacturer's instructions.

In addition, samples from patients of AK ($n = 74$) were analyzed with the Roche Linear Array HPV Genotyping/Detection Kit (Roche, Basel, Switzerland) that detects and differentiates 37 anogenital HPV types. DNA was isolated using Maxwell 16 LEV Blood DNA kit (Promega, WI) on the Maxwell 16 instrument (Promega, WI). Polymerase chain reaction test was performed with L1 primers amplifying a 450bp fragment. Human papillomavirus types were identified by hybridization with the Roche Linear Array according to the manufacturer's instructions.

Detailed information regarding DNA isolation, HPV detection, and typing is provided in the supplemental digital content (Supplemental Digital Content 1, <http://links.lww.com/LGT/A65>).

Interview and Risk Factor Questionnaire

History was taken via interview with a newly designed standardized questionnaire focusing on demographic characteristics, tobacco and alcohol use, clinical history of sexually transmitted diseases, and sexual activity (age at first sexual intercourse, number of sexual partners ever and in the last 12 months), sexual behaviors (oral-genital sexual intercourse ever and in the last 12 months), and contraception methods (condom use, oral hormone therapy).

Statistical Analysis

Data are presented as means (SD) for continuous data or counts and percentages for categorical data. Groups were compared using Student's t test for continuous outcomes and likelihood ratio χ^2 tests otherwise.

Role of the Funding Source

This work was supported by Greiner Bio-One GmbH (Frickhausen, Germany). Human papillomavirus PCR test were provided at no costs without restriction to the study protocol.

RESULTS

Study Cohort/Cervical HPV Detection

Two hundred thirty-five women (UKE 155, AK 80) were included in the study (see Figure 1). Of the 235 patients, 223 (94.9%) received cervical HPV testing, 221 (94.0%) received brushing of the tonsils, and 146 (62.1%) received an oral lavage. Of the 223 patients, 207 (92.8%) were HPV+ at the cervix (see Table 1). In 161 (68.5%) of the screened 235 patients, an HSIL was histologically confirmed, and 148 (91.9%) were cervically HPV+; in the remaining patients, no test was performed ($n = 8$) or HPV remained negative (HPV-) ($n = 5$). Of the 161 patients, 143 (88.8%) were HR-HPV+. Of the 143 patients, 8 were excluded because of missing oral samples ($n = 3$) and age older than 45 years ($n = 5$) resulting in a study cohort of 135 patients with HR-HPV+ histologically confirmed HSIL. Frequently detected HPV types were HPV 16 in 71 of these cervical specimens (52.9%), HPV 31 in 12 (8.9%), HPV 56 in 10 (7.4%), and HPV 51 and 52 each in 9 specimens (6.7%) (multiple naming possible) (see Figure 2). Ninety-four samples (69.7%) provided only 1 HPV type, 24 (17.8%) showed 2 HPV types, and 17 (12.6%) detected more than 2 different HPV types. Of the 135 patients, 4 (2.9%) had a history of conization, 3 (75%) were cervically HPV 16+, and 1 (25%) HPV 18+. None of those had an oral HPV infection.

Oral HPV Detection

Altogether, HPV DNA was detected in 6 (4.4%) of the 135 oral specimens of the study cohort (see Figure 1, Table 2). All of these patients had a cervical and tonsillar smear tested with both HPV tests, lavage was performed in 3 of the 6 specimens. Results of testing are displayed in Table 3. In 3 (50%) of the 6 patients, the same HPV type was detected in the tonsillar and cervical smear (HPV 16, 35, and 45).

Results of the Questionnaire

Patient characteristics of the study cohort ($n = 135$) are displayed in Table 3 with regard to oral HPV detection (see also Supplemental Digital Content 2, <http://links.lww.com/LGT/A66>). As oral HPV infection was detected in only 6 patients, comparison of HPV+ and HPV- patients was difficult. The median age of all patients was 30 (range: 21–45) years. Most patients lived in a long-term relationship (71.6%) and had had less than 10 lifetime sexual partners. All patients practiced French kissing and had approximately 15 lifetime oral kissing partners. One hundred percent of oral HPV+ patients compared with 93% of oral HPV- patients had current oral sex. Fifty seven (42.2%) of oral HPV- patients were using oral contraception. Approximately 50% of oral HPV+ patients were using condoms. A total of 48.5% of oral HPV- patients reported regular dental consultation and only 33.3% of oral HPV+ patients (see Table 3).

DISCUSSION

In this study, we investigated the oral HPV prevalence in patients with high-grade dysplasia of the uterine cervix under the assumption that patients with persistent genital HPV infection might be more susceptible to persistent oral HPV infection dependent on sexual behavior. Compared with international data, we detected a relatively low oral HPV prevalence in our cervically HPV+ cohort of 4.4%. The observed prevalence was similar to that described in healthy cohorts between 30 and 34 years in the United States.¹³ To verify results, we used two different testing methods: all cervical smears were tested with PapilloCheck and a subset of patients also received simultaneous testing with Roche Linear Array. Correctness of the low detection rate in oral samples was supported by completely concordant test results in tonsillar swabs analyzed by the two HPV PCR assays. Interestingly, recent German studies with smaller case numbers (using only 1 HPV test method) reported similar low oral prevalence rates between 3% and 5.7% in women screened for cervical HPV infection without evidence of OSCC or CC (brushing or rinse, all PCR testing)^{19,20} (see Table 4). Generally, there might be an underestimation of the true oral HPV prevalence because of fluctuating patterns of HPV

TABLE 1. Human Papillomavirus Detection Rates in the Screened Cohort (N = 235)

HPV any type ^a	Tonsillar smear (n = 221)	Cervical smear (n = 223)	Oral lavage (n = 146)
HPV–	215 (97.3)	16 (7.2)	141 (96.6)
HPV+	6 (2.7)	207 (92.8)	5 (3.4)

Data are presented as n (%).

HPV indicates human papillomavirus.

^aPapilloCheck, Roche Linear Array.

infection, few HPV types detected (test were designed to detect HPV types associated with anogenital infection), possible sampling errors when taking samples (0.5–1.5 l of saliva in the oral cavity may dilute the HPV signal), and last but not least the microenvironment of mouth might impede detection.²⁵ In our study, only 3 patients showed concordant HPV types in tonsillar and cervical smears. Autoinoculation might be a possible way of transmission, but the little number of cases does not allow any conclusion, and

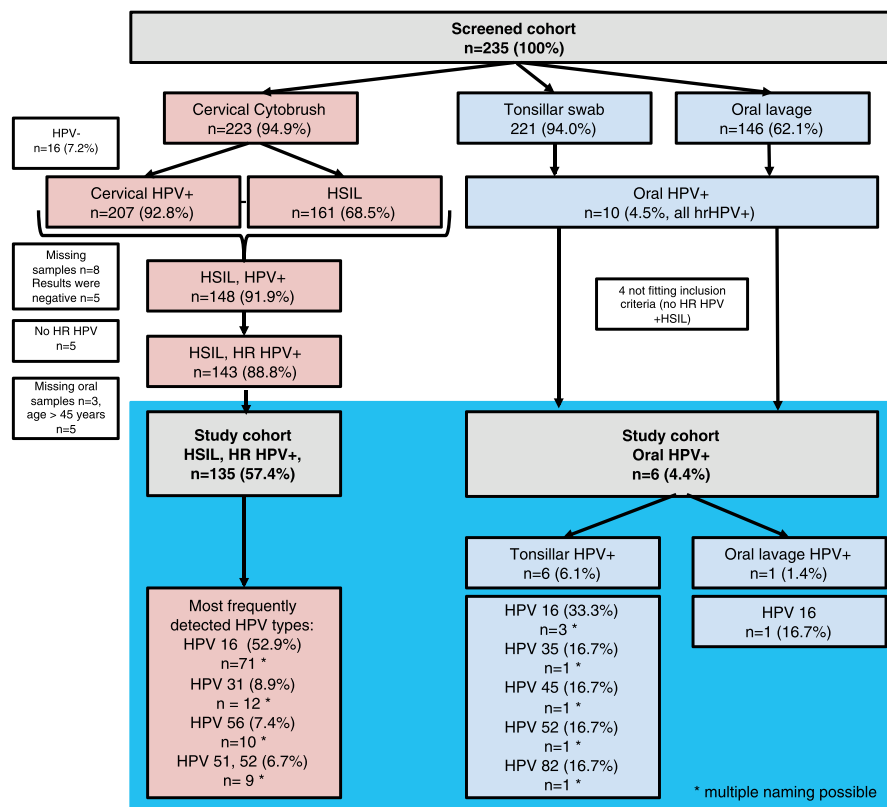


FIGURE 1. Patient flow diagram showing HPV status and CIN status in screened cohort (n = 235) and study cohort (n = 135).

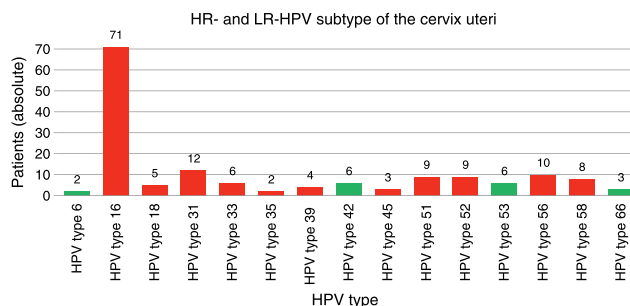


FIGURE 2. Human papillomavirus (HPV) type distribution among the cervical swab. The graph depicts the distribution of genital HPV types found in the cervix of the study cohort. High-risk HPV is represented with red bars, and low-risk HPV is shown in green bars. Multiple namings possible.

our questionnaire did not ask for autoinoculation in detail. Previous studies of Smith et al.¹⁵ (2004) and Saini et al.³⁰ (2010) showed that autoinoculation is generally uncommon. Because risk factors for HPV+ OSCC are assumed to be similar to risk factors in CC, a widely discussed way of transmission is oral sex. In contrast to the impression given in published unscientific media, there is only a poor level of evidence to prove the hypothesis that oral sex is the vector for transmission of HPV from uterine cervix to oral cavity, because 40% of OSCC patients have less than 3 lifetime sexual partners and 8% to 40% have no history of oral sexual contact.^{15,31} We could not demonstrate a correlation to sexual behavior in our study cohort except that all oral HPV+ patients had practiced oral sex before. Brown et al.³² and Giraldo et al.²⁴ similarly reported that only 7.6% of women who practiced oral sex had oral HPV.

So far, there are only few studies that focused on transmission and concordance of HPV infection of cervix and oropharynx in women. In one older study of Kellokoski et al.²⁵ (1992), HPV+ women received biopsies from clinically normal buccal mucosa, which were analyzed with PCR and southern blot hybridization for HPV. Oral HPV prevalence was relatively high with 15.6% (PCR) and 29.4% (southern blot hybridization). The group concluded that oral HPV infections are surprisingly common, but similar to the genital tract, the virus seems to cause clinically latent infections in most cases. Termine et al.²⁸ conducted a meta-analysis of the literature in 2011 with regard to oral HPV infection

in women with cervical HPV infection. The pooled prevalence of oral HPV infection was high with 18.1% (95% CI = 10.3–25.3) and 27.2% in women with HIV infection (95% CI = 22.1–32.2) including a large interstudy variation.²⁸ Included studies based on oral brushing reported a higher oral prevalence with 19.9% versus 15.3%.²⁸ The group also found a 27% (95% CI = 12.3–41.7) concordance of HPV types orally and cervically, although 4 sufficiently large studies did not find identical HPV types in oral and cervical samples (see Table 4).^{21–23,26,27,29,33}

Another natural way of transmission might be the vertical transmission of HPV from mother to fetus. Indeed, up to 80% of neonates born to women with genital HPV have HPV DNA detectable in their nasopharyngeal aspirate or oral mucosa, and this may persist for months or years.^{34–37} Up to date, little is known about the clinical significance of HPV detection in neonates; what happens in case of a reactivation in times of immunosuppression or how such infections can be prevented by vaccination or secondary prevention. The HPV Family Study in Finland was a prospective cohort study assessing the dynamics of HPV transmission between parents and infants.³⁷ Persistent cervical HR-HPV was shown to be a significant risk factor for infant oral HPV, whereas maternal oral HR-HPV at 6 months was a risk factor for infant genital HPV. However, the mechanisms of HPV transmission are highly complex and associated with the development of the infant's own immune system during the first months of life.³⁷ A further point might be dental hygiene.

TABLE 2. Human Papillomavirus Types Detected in Oral Samples of the Study Participants When Positive ($n = 6$) With Regard to Cervical HPV Types

HPV type	Oral detection				
	Oral lavage any test ^{a,b}	Oral lavage GBO ^a	Tonsillar smear any ^b	Tonsillar smear GBO ^a	HPV detection in tonsillar smear Roche ^b
Cervical detection					
51	16	16	16	Negative	ND
16	0	0	82	82	ND
16	ND	ND	16	16	16
18, 45	ND	ND	45	45	45
35, 52	ND	ND	35	35	35
16, 42	0	TLSM	52	52	ND

Bold values indicate significant findings.

HPV indicates human papillomavirus; GBO, Greiner Bio-One; ND, not done; TLSM, insufficient sample material.

^aPapilloCheck.

^bRoche Linear Array.

TABLE 3. Patient Characteristics With Regard to Oral HPV Infection (*n* = 135)

Characteristics	<i>n</i> = 135, %	HPV orally negative (<i>n</i> = 129), %	HPV orally positive (<i>n</i> = 6), %	<i>P</i> ^a
Age, y				.639
Mean (SD)	31.6 (5.9)	31.7 (5.8)	30.5 (7.4)	
Median (range)	30 (21–45)	30 (21–45)	28 (25–45)	
Relationship and sexual behavior				
Age at first sexual intercourse				.549
Mean (SD)	16.4 (2.2)	16.4 (2.2)	15.8 (1.8)	
Median (range)	16 (12–25)	16 (12–25)	16 (14–19)	
Solid relationship				.724
No	25 (18.5)	24 (18.6)	1 (16.7)	
Yes	63 (46.7)	61 (47.3)	2 (33.3)	
Unknown	47 (34.8)	44 (34.1)	3 (50.0)	
No. sexual partner last 12 mo				.249
No. patients (% valid) ^b	71 (52.6)	68 (52.7)	3 (50.0)	
Mean (SD)	1.2 (0.7)	1.2 (0.7)	1.7 (0.6)	
Median (range)	1 (0–4)	1 (0–4)	2 (1–2)	
French kissing				
Yes	71 (52.6)	68 (52.7)	3 (50.0)	.897
Unknown	64 (47.4)	61 (47.3)	3 (50.0)	
Lifetime partner				.996
Mean (SD)	15.0 (10.7)	15.0 (10.9)	15.0 (5.0)	
Median (range)	15 (1–60)	14 (1–60)	15 (10–20)	
Last 12 mo				.423
Mean (SD)	1.5 (1.7)	1.5 (1.8)	2.3 (1.5)	
Median (range)	1 (0–13)	1 (0–13)	2 (1–4)	
Oral sex				
Current oral sex				.357
No	9 (6.7)	9 (7.0)	0 (0.0)	
Yes	126 (93.3)	120 (93.0)	6 (100.0)	
Lifetime partner				
No. patients (% valid) ^c	71 (52.6)	68 (52.7)	3 (50.0)	
Mean (SD)	5.1 (5.9)	5.2 (6.0)	3.7 (1.2)	.659
Median (range)	3 (0–25)	3 (0–25)	3 (3–5)	
Partners last 12 mo				
No. patients (% valid) ^b	71 (52.6)	68 (52.7)	3 (50.0)	
Mean (SD)	1.0 (0.7)	1.0 (0.7)	1.0 (1.0)	.914
Median (range)	1 (0–4)	1 (0–4)	1 (0–2)	
Oral sex/mo				
Mean (SD)	1.0 (0.6)	1.0 (0.6)	0.8 (0.4)	.583
Median (range)	1 (0–2)	1 (0–2)	1 (0–1)	
Oral hormones				.093
No	56 (41.5)	51 (39.5)	5 (83.3)	
Yes	76 (56.3)	75 (58.1)	1 (16.7)	
Unknown	3 (2.2)	3 (2.3)	0 (0.0)	
Oral hygiene				
Dentist consultation				.077
No	8 (5.9)	6 (4.7)	2 (33.3)	
Yes, 1×/y	29 (21.5)	29 (22.5)	0 (0.0)	
≥2×/y	34 (25.2)	33 (25.6)	1 (16.7)	
Unknown	64 (47.4)	61 (47.3)	3 (50.0)	

HPV indicates human papillomavirus.

^aGroups were compared using Student *t* test for continuous outcomes and likelihood ratio χ^2 tests otherwise.^bData available only in UKE.

TABLE 4. Studies on Oral HPV Infection in Women With Concordant Cervical HPV Infection

Reference	Country	Women with genital HPV infection, n	Oral sampling method	HPV DNA detecting method	Oral HPV+ HPV, %	Oral HPV, %	Simultaneous oral/cervical HPV infection	Women with the same HPV type at oral and cervical sites, n (%)
Badaracco et al. ²¹	Italy	10	Swab	PCR	5	50	3	30.0
Castro et al. ²²	Brazil	17	Swab	PCR	0	0.0	0	0.0
Fakhry et al. ²³	United States	35	Swab	PCR	5	14.3	0	0.0
Fakhry et al. ^{23b}	United States	110	Rinse	PCR	32	29	14	12.7
Giraldo et al. ²⁴	Brazil	70	Swab	PCR	16	23	NR	0.0
Kellokoski et al. ²⁵	Finland	309	Swab	DBH	12	3.9	3	1.0
Marais et al. ^{26b}	South Africa	34	Swab	PCR	9	26.5	5	14.7
Marais et al. ²⁶	South Africa	64	Swab	PCR	16	25	0	0.0
Meyer et al. ^{19a}	Germany	70	Swab	PCR	4	5.7	1	1.4
Termine et al. ²⁷	Italy	76	Swab	PCR	2	2.6	0	0.0
Termine et al. ²⁸	Italy	98	Rinse	PCR	14	14.3	3	3.1
Smith et al. ^{29a}	United States	165	Rinse	PCR	6	3.6	0	0.0
Uken et al. ^{20a}	Germany	101	Swab	PCR	3	3	2	2.0

HPV, human papillomavirus; NR, not specifically reported in the paper; PCR, polymerase chain reaction; DBH, dot blot hybridization.

^aOnly Smith et al.,²⁹ Meyer et al.,¹⁹ and Uken et al.²⁰ collected partner samples in the partners oropharynx as well.

^bHIV positive.

Although the numbers are too small to draw definitive conclusions, 48.1% of oral HPV– patients in our study report regular dental consultation but only 16.7% of oral HPV+ patients. A study published in Cancer Prevention Research 2013 ($n = 3,439$; age = 30–69 years) found that people with poor oral health are at increased risk of being infected by oral HPV, irrespective of other known risk factors for oral HPV infection, including tobacco use and having multiple oral sex partners.³⁸ They postulate that bad oral hygiene (with resulting ulcers, mucosal disruption, or chronic inflammation) increases the susceptibility to HPV infection and that good oral hygiene maintains good oral health. In 2015, another study was conducted by Bui et al.³⁸ to examine self-reported oral health, oral hygiene, and oral HPV infection in at risk women ($n = 126$; age = 18–45 years; oral rinse) in Vietnam. Ultimately, one of the most interesting questions for future research will be the oral HPV status of the sexual partners of affected women. So far, there are only 3 studies, 2 conducted in Germany, with concurrent oral testing of male partners.^{19,20,29} None showed a significant concordance with female cervical and/or oral HPV infection. Smith et al.²⁹ tested 68 male partners of pregnant women with a history of HPV+ cervical smear. Via oral rinse technique 5.9% of the men were tested positive for oropharyngeal HPV infection. None of the infected men had female partners who were concurrently infected in either the oral or genital area. Uken et al.²⁰ tested 60 sexual partners of women with cervical dysplasia. One hundred one women were cervically HPV positive. Only 3 (3%) of 101 women were also tested HPV+ in the oropharynx. Of the 60 (60%) of 101 women, the sexual partner could be tested for oral HPV infection, with a positive result in 3 (5%) of the 60 women. In only 1 case, a concordant HPV type between female cervix and male oropharynx (HPV 16) was observed. In line with our results, Uken et al.²⁰ concluded that oral HPV prevalence in women with HPV-related dysplasia of the cervix seems to be low and that sexual transmission to the oropharynx by oral-genital sex or by

autoinoculation is seldom. A possible explanation for the lack of correlation between genital and oral HPV infection could be different mechanism of virus clearance dependent on the squamous cell area.^{19,39} Although the incidence of HPV-related OSCC is rising in both sexes, men are more often affected than women.⁴⁰ The reasons for the different dynamics in the incidence are not fully clear.⁴¹ Possible explanations might be other biological factors contributing to the increased incidence in men or a protective effect of previous cervical HPV infection in women.⁴¹ Because HPV is nowadays the most common cause for OSCC, oral HPV infection has become a focus of intensive research. Otorhinolaryngologists search for suitable screening tests analogous to CC. However, little is still known about the biology of HPV-associated OSCC. More data are necessary to improve our understanding of viral transmission to the oral mucosa, natural course of those infections, HPV-related oral carcinogenesis, and factors driving concomitant oral and genital HPV infection in both sexes.

CONCLUSIONS

Our data suggest that HPV transmission from cervix to oropharynx with resulting persistent HPV infection of the oropharynx is a rare event. Simultaneous testing of oropharyngeal HPV infection in women with cervical dysplasia does not seem promising as a screening strategy for OSCC.

REFERENCES

1. Bernard HU. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *J Clin Virol* 2005;32(Suppl 1):S1–6.
2. Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev* 2003;16:1–17.
3. Koutsky L. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Am J Med* 1997;102(5A):3–8.

4. Deleré Y, Remschmidt C, Leuschner J, et al. Human Papillomavirus prevalence and probable first effects of vaccination in 20 to 25 year-old women in Germany: a population-based cross-sectional study via home-based self-sampling. *BMC Infect Dis* 2014;14:87.
5. Chan JK, Berek JS. Impact of the human papilloma vaccine on cervical cancer. *J Clin Oncol* 2007;25:2975–82.
6. Chang F, Syrjänen S, Kellokoski J, et al. Human papillomavirus (HPV) infections and their associations with oral disease. *J Oral Pathol Med* 1991;20:305–17.
7. Chaturvedi AK. Epidemiology and clinical aspects of HPV in head and neck cancers. *Head Neck Pathol* 2012;6(Suppl 1):S16–24.
8. Young D, Xiao CC, Murphy B, et al. Increase in head and neck cancer in younger patients due to human papillomavirus (HPV). *Oral Oncol* 2015;51:727–30.
9. Sturgis EM, Ang KK. The epidemic of HPV-associated oropharyngeal cancer is here: is it time to change our treatment paradigms? *J Natl Compr Canc Netw* 2011;9:665–73.
10. Deschler DG, Richmon JD, Khariwala SS, et al. The “new” head and neck cancer patient—young, nonsmoker, nondrinker, and HPV positive: evaluation. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2014;151:375–80.
11. Wittekindt C, Wagner S, Mayer CS, et al. Basics of tumor development and importance of human papilloma virus (HPV) for head and neck cancer. *GMS Curr Top Otorhinolaryngol Head Neck Surg* 2012;11:Doc09.
12. Kreimer AR, Bhatia RK, Messegue AL, et al. Oral human papillomavirus in healthy individuals: a systematic review of the literature. *Sex Transm Dis* 2010;37:386–91.
13. Gillison ML, Alemany L, Snijders PJ, et al. Human papillomavirus and diseases of the upper airway: head and neck cancer and respiratory papillomatosis. *Vaccine* 2012;30(Suppl 5):F34–54.
14. Hemminki K, Dong C. Cancer in husbands of cervical cancer patients. *Epidemiology* 2000;11:347–9.
15. Smith EM, Ritchie JM, Summersill KF, et al. Age, sexual behavior and human papillomavirus infection in oral cavity and oropharyngeal cancers. *Int J Cancer* 2004;108:766–72.
16. D'Souza G, Agrawal Y, Halpern J, et al. Oral sexual behaviors associated with prevalent oral human papillomavirus infection. *J Infect Dis* 2009;199:1263–9.
17. Herrero R, Castellsagué X, Pawlita M, et al. Human papillomavirus and oral cancer: the International Agency for Research on Cancer multicenter study. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:1772–83.
18. Martín-Hernán F, Sánchez-Hernández JG, Cano J, et al. Oral cancer, HPV infection and evidence of sexual transmission. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2013;18:e439–44.
19. Meyer MF, Huebbers CU, Siefert OG, et al. Prevalence and risk factors for oral human papillomavirus infection in 129 women screened for cervical HPV infection. *Oral Oncol* 2014;50:27–31.
20. Uken RB, Brummer O, von Schubert-Bayer C, et al. Oral HPV prevalence in women positive for cervical HPV infection and their sexual partners: a German screening study. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2016;273:1933–42.
21. Badaracco G, Venuti A, Di Leonardo A, et al. Concurrent HPV infection in oral and genital mucosa. *J Oral Pathol Med* 1998;27:130–4.
22. Castro TP, Bussoloti Filho I. Prevalence of human papillomavirus (HPV) in oral cavity and oropharynx. *Braz J Otorhinolaryngol* 2006;72:272–82.
23. Fakhry C, D'Souza G, Sugar E, et al. Relationship between prevalent oral and cervical human papillomavirus infections in human immunodeficiency virus-positive and -negative women. *J Clin Microbiol* 2006;44:4479–85.
24. Giraldo P, Gonçalves AK, Pereira SA, et al. Human papillomavirus in the oral mucosa of women with genital human papillomavirus lesions. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2006;126:104–6.
25. Kellokoski J, Syrjänen S, Yliskoski M, et al. Dot blot hybridization in detection of human papillomavirus (HPV) infections in the oral cavity of women with genital HPV infections. *Oral Microbiol Immunol* 1992;7:19–23.
26. Marais DJ, Passmore JA, Denny L, et al. Cervical and oral human papillomavirus types in HIV-1 positive and negative women with cervical disease in South Africa. *J Med Virol* 2008;80:953–9.
27. Termine N, Giovannelli L, Matranga D, et al. Low rate of oral human papillomavirus (HPV) infection in women screened for cervical HPV infection in Southern Italy: A cross-sectional study of 140 immunocompetent subjects. *J Med Virol* 2009;81:1438–43.
28. Termine N, Giovannelli L, Matranga D, et al. Oral human papillomavirus infection in women with cervical HPV infection: new data from an Italian cohort and a meta-analysis of the literature. *Oral Oncol* 2011;47:244–50.
29. Smith EM, Ritchie JM, Yankowitz J, et al. HPV prevalence and concordance in the cervix and oral cavity of pregnant women. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2004;12:45–56.
30. Saini R, Tang TH, Zain RB, et al. Significant association of high-risk human papillomavirus (HPV) but not of p53 polymorphisms with oral squamous cell carcinomas in Malaysia. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011;137:311–20.
31. Gillison ML, D'Souza G, Westra W, et al. Distinct risk factor profiles for human papillomavirus type 16-positive and human papillomavirus type 16-negative head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:407–20.
32. Brown B, Blas MM, Cabral A, et al. Oral sex practices, oral human papillomavirus and correlations between oral and cervical human papillomavirus prevalence among female sex workers in Lima, Peru. *Int J STD AIDS* 2011;22:655–8.
33. Cañadas MP, Bosch FX, Junquera ML, et al. Concordance of prevalence of human papillomavirus DNA in anogenital and oral infections in a high-risk population. *J Clin Microbiol* 2004;42:1330–2.
34. Rombaldi RL, Serafini EP, Mandelli J, et al. Perinatal transmission of human papillomavirus DNA. *Virol J* 2009;6:83.
35. Fredericks BD, Balkin A, Daniel HW, et al. Transmission of human papillomaviruses from mother to child. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 1993;33:30–2.
36. Cason J, Kaye JN, Jewers RJ, et al. Perinatal infection and persistence of human papillomavirus types 16 and 18 in infants. *J Med Virol* 1995;47:209–18.
37. Rintala MA, Grénman SE, Puranen MH, et al. Transmission of high-risk human papillomavirus (HPV) between parents and infant: a prospective study of HPV in families in Finland. *J Clin Microbiol* 2005;43:376–81.
38. Bui TC, Markham CM, Ross MW, et al. Examining the association between oral health and oral HPV infection. *Cancer Prev Res (Phila)* 2013;6:917–24.
39. Preuss SF, Klusmann JP, Semrau R, et al. [Update on HPV-induced oropharyngeal cancer]. *HNO* 2011;59:1031–7.
40. Chaturvedi AK, Engels EA, Anderson WF, et al. Incidence trends for human papillomavirus-related and -unrelated oral squamous cell carcinomas in the United States. *J Clin Oncol* 2008;26:612–9.
41. Sathish N, Wang X, Yuan Y. Human papillomavirus (HPV)-associated oral cancers and treatment strategies. *J Dent Res* 2014;93(7 Suppl):29S–36S.

2. Einleitung

Humane Papilloma Viren (HPV) sind weit verbreitet und gehören zu den häufigsten sexuell übertragbaren Infektionen weltweit (Bernard, 2005, Burd, 2003, Wittekindt et al., 2011). Sie umfassen eine Gruppe von fast 200 miteinander verwandten DNA-Viren, von denen einige eine zentrale Rolle bei der Entstehung von Krebserkrankungen an Vulva, Vagina, Zervix, Penis, Analbereich und im Oropharynx spielen (Giuliano et al., 2015). Die entscheidende Bedeutung von HPV bei der Entstehung von Zervixkarzinomen ist seit langem bekannt und in zahlreichen Studien und molekularbiologischen Untersuchungen erforscht (zur Hausen, 1999, Gillison et al., 2012b). Man unterscheidet high-risk (HR) HPV-Typen mit hohem onkogenen Potential und low-risk (LR) HPV Typen mit niedrigem onkogenen Potential (Parkin and Bray, 2006, de Villiers, 2013, zur Hausen, 2002). Insbesondere den HPV-Typen 16 und 18 wird eine hohe onkogene Potenz zugeschrieben. Sie sind für über 70% der Zervixkarzinome verantwortlich (de Martel et al., 2017). Das Lebenszeitrisiko einer genitalen HPV-Infektion liegt bei Frauen bei etwa 75% (Koutsky, 1997). In Deutschland zeigte sich für HPV 16, dem häufigsten Genotyp, eine Prävalenz von 38,1 % bei Frauen zwischen 20 und 25 Jahren (Delere et al., 2014). Die meisten Infektionen bleiben inapparent und heilen innerhalb von 2 Jahren folgenlos aus. 10-40% der genitalen Infektionen persistieren und können zu hochgradigen zervikalen intraepithelialen Läsionen (HSIL) führen. Unbehandelt entsteht daraus in 12-70% der Fälle ein invasives Zervixkarzinom (Chan and Berek, 2007). Mittlerweile ist auch bekannt, dass ein Teil der Plattenepithelkarzinome des Oropharynx (oral squamous cell carcinoma, OSCC) durch eine HPV-Infektion induziert wird (Chang et al., 1991, Wittekindt et al., 2011, Candotto et al., 2017). Die Entstehung der HPV-positiven OSCC scheint dabei weitestgehend unabhängig von den bekannten Noxen wie Nikotin oder Alkohol zu sein. Während in den 80er Jahren die Inzidenz der OSCC aufgrund des abnehmenden Nikotinabusus zunächst zu sinken schien, kam es im Verlauf dennoch zu einem deutlichen Anstieg der Inzidenz der OSCC (Sturgis and Ang, 2011). Hervorgerufen wurde dieser Anstieg durch die drastische Zunahme der Inzidenz HPV-assoziiierter OSCC, wohingegen die Inzidenz HPV-negativer OSCC tatsächlich zu gleicher Zeit um 50% sank (Sturgis and Ang, 2011, Chaturvedi, 2012, Deschler et al., 2014, Young et al., 2015). Bezüglich der Prävalenz von HPV-Infektionen des Oropharynx zeigen sich weltweit große Schwankungen (Canadas et al., 2004, de Martel et al., 2017). Eine Studie zu weltweiten HPV Infektionen zeigt

eine HPV Assoziation bei 30% der OSCC (de Martel et al., 2017). Studien aus Australien, der USA und Italien geben eine Prävalenz zwischen 2,3% und 7,3% an (Antonsson et al., 2014, D'Souza et al., 2017, McQuillan et al., 2017, Lupato et al., 2017). Bei in Deutschland durchgeführten Studien liegt der Prozentsatz der HPV-positiven OSCC bei 20-60% (Hoffmann et al., 2012, Holzinger et al., 2012, Wittekindt et al., 2012, Quabius et al., 2015). Eine systematische Übersichtsarbeit schloss 18 Studien ein und untersuchte die orale HPV-Prävalenz von 4581 gesunden Probanden zwischen 3 und 85 Jahren. Die Prävalenz einer HPV-Infektion betrug 4,5%. Bei 3,5% war ein onkogener HPV-Typ nachweisbar. Ein signifikanter geschlechtsspezifischer Unterschied wurde nicht festgestellt, bei einer Prävalenz von 4,6% bei Männern zu 4,4% bei Frauen. Der am häufigsten nachweisbare HPV-Typ war hier HPV 16 mit einer Prävalenz von 1,3% (Kreimer et al., 2010, Termine et al., 2011). Am häufigsten durch eine HPV-Infektion betroffene orale Strukturen sind der Zungenrund und die Tonsillen (Wittekindt et al., 2012, de Martel et al., 2017). Ähnlich wie bei den zervikalen HPV-Infektionen verlaufen auch viele orale HPV-Infektionen transient (Edelstein et al., 2012, Brouwer et al., 2022). Die HPV Infektion als Ursache für die Entstehung von OSCC ist Gegenstand intensiver Forschung (Fakhry et al., 2006, Termine et al., 2009, Gillison et al., 2012a). Bisher gilt nur die Rolle von HPV in der Karzinogenese der OSCC als wissenschaftlich belegt, während die genauen Übertragungswege und Infektionsmechanismen noch weitestgehend unklar sind. Beim Zervixkarzinom sind diese bereits bekannt (Green et al., 2003). Möglicherweise spielen bei der Entstehung von OSCC, ähnliche Risikofaktoren eine Rolle, wie beim Zervixkarzinom. Ein Zusammenhang von genitalen und oropharyngealen HR-HPV Infektionen wird diskutiert. Vor allem bestimmtes Sexualverhalten, ein entscheidender Risikofaktor beim Zervixkarzinom, könnte auch bei der Entstehung von HPV- assoziierten OSCC entscheidenden Einfluss haben (Smith et al., 2004a, D'Souza et al., 2009, Herrero et al., 2003). Verschiedene Studien deuten drauf hin, dass bestimmte sexuelle Praktiken wie Oralsex oder oral-analer Kontakt sowie verschiedene sexuelle Verhaltensweisen, z.B. eine hohe Anzahl an verschiedenen Sexualpartnern, dazu führen könnten, dass HPV in den Oropharynx übertragen wird (Smith et al., 2004a, D'Souza et al., 2009, Martin-Hernan et al., 2013, Dalla Torre et al., 2016). Die steigende Anzahl an HPV-Infektionen im Oropharynx ist also möglicherweise durch sich ändernde Sexualpraktiken und Promiskuität begründet (Smith et al., 2004a, Martin-Hernan et

al., 2013). Die Transmission von HPV in den Oropharynx, sowie die Bedingungen und Faktoren, die zu einer persistierenden Infektion und maligner Entartung führen sind bisher nicht ausreichend bekannt. Unklar ist bisher auch, mit welcher Methode sich eine orale HPV-Infektion optimal nachweisen lässt. Angesichts der steigenden Inzidenz HPV-assoziiierter OSCC sind epidemiologische Daten über Risikogruppen für persistente HR-HPV Infektionen des Oropharynx hochgradig relevant. Ein naheliegender Ansatz dabei ist die Analyse der Koprävalenz oropharyngealer HPV-Infektionen bei Frauen mit bereits manifester zervikaler HPV-Infektion. Deshalb untersuchten wir die orale HPV-Prävalenz bei Patientinnen mit HR-HPV-Positivität und HSIL unter der Annahme, dass Frauen mit anhaltender genitaler HPV-Infektion, abhängig vom Sexualverhalten, auch anfälliger für eine persistierende orale HPV-Infektion sind. Um verschiedene Nachweismethoden dabei vergleichen zu können, nutzten wir einen Tonsillen Abstrich und eine orale Lavage.

3. Material und Methoden

3.1 Studiendesign

Das Studiendesign umfasst eine Querschnittsstudie, die in Zusammenarbeit des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf (UKE) und der Asklepios Klinik Hamburg Altona durchgeführt wurde. Der Erfassungszeitraum lag zwischen Februar 2014 und Juni 2015. Patientinnen, die wegen eines auffälligen zytologischen Befundes in die Dysplasiesprechstunden beider Kliniken kamen, erhielten eine Bestimmung des zervikalen und des oropharyngealen HPV-Status. Die Kohorte des UKE erhielt zusätzlich eine orale Lavage um die beiden Methoden zu vergleichen. Alle Patientinnen wurden anhand eines Fragebogens zu klinischen, therapeutischen, demographischen Daten und weiteren Risikofaktoren befragt. Vor Einschluss in die Studie wurde eine schriftliche Einverständniserklärung von jeder Patientin eingeholt.

3.2 Patientenkollektiv

Einschlusskriterien der Studie waren eine HR-HPV-Positivität und HSIL und ein Alter zwischen 18 und 45 Jahren. Zu den Ausschlusskriterien gehörten nicht HPV-bedingte Erkrankungen der Vulva, Vagina und Zervix, Malignomkrankungen der Zervix, Schwangerschaft und eine stattgehabte Tonsillektomie, ein Alter unter 18 und über 45.

3.3 Klinische Proben

Die Proben zur Testung des HPV-Status der Zervix wurden mit Hilfe einer Cytobrush (Gynobrush®; Heinz Herenz, Hamburg, Germany) von Endozervix und Ektozervix genommen. Der oropharyngeale HPV-Status wurde mittels eines PapCone® (Otto Bock PUR Life Science GmbH, Duderstadt, Germany) gewonnen. Dazu wurde ein PapCone® jeweils auf der rechten und linken Seite im Bereich der Tonsillen 5-10-mal auf der Mukosa vor und zurückgestrichen. Das Material wurde anschließend in Sure Path Flüssigkeit® (Becton Dickinson Co.®, Franklin Lakes, NJ) konserviert. Die Aufbewahrung bis zur Testung im Labor erfolgte bei 4°C im Kühlschrank. Bei einer Untergruppe von Patientinnen (n=71) wurde eine orale Lavage durchgeführt, um die Erkennungsraten von HPV-DNA zwischen Lavage und Abstrich vergleichen zu können. Für die Gewinnung der oralen Lavage gurgelten die Patientinnen 60 Sekunden lang mit 10ml 0,9% NaCl-Lösung, die nachfolgend in einem Falcon-Röhrchen bei 4°C im Kühlschrank kurzfristig gelagert und dann im Labor analysiert wurde.

3.4 HPV-Detektion und Genotypisierung

Die Testung der Proben dieser Studie auf HPV erfolgte sowohl bei den zervikalen als auch bei den oralen Proben mit dem PapilloCheck® (Greiner Bio-One [GBO]), welcher 24 verschiedene HPV-Typen erkennen und differenzieren kann. Die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) wurde mit E1 Primern durchgeführt, die ein 350bp-Fragment amplifizieren, das anschließend durch Array-Hybridisierung gemäß den Anweisungen des Herstellers analysiert wurde. Die zervikalen und oralen Proben aus der Asklepios Klinik Altona wurden zusätzlich mit dem Roche Linear Array® HPV Genotyping/Detection Kit (Roche, Basel, Schweiz) getestet. Dieser Test kann 37 HPV-Typen erkennen und differenzieren. Die DNA-Isolation erfolgte dort mittels Maxwell 16 LEV Blood DNA kit® (Promega, WI) und dem Maxwell 16

Instrument® (Promega, WI). Die PCR wurde mit L1 Primern durchgeführt, die ein 450bp Fragment amplifizieren, das anschließend mit dem Roche Linear Array® durch Array- Hybridisierung gemäß den Vorgaben des Herstellers analysiert wurde.

3.5 Fragebogen

Die Befragung der Patientinnen erfolgte anhand eines standardisierten Fragebogens. Dieser wurde neu entwickelt und erfasste neben demographischen Daten, Informationen zu Risikofaktoren (zum Beispiel Rauchen, Alkoholkonsum), zur Sexualanamnese (Alter beim ersten Geschlechtsverkehr, Anzahl der Sexualpartner insgesamt und in den letzten 12 Monaten, sexuell übertragbare Erkrankungen in der Anamnese) sexuellem Verhalten (Häufigkeit des oral-genitalen Sexualverkehrs insgesamt und in den letzten 12 Monaten) sowie zu verwendeten Verhütungsmethoden.

3.6 Datenbank und Datenbankmanagement

Patientinnen, die für die Studie in Frage kamen, wurden im Anschluss an den Besuch der Dysplasiesprechstunden über die Studie mündlich und schriftlich aufgeklärt. Dabei wurden Inhalte und Ziele aufgezeigt und dargelegt, dass die erhobenen Daten der Schweigepflicht und den datenschutzrechtlichen Bestimmungen unterliegen. Erst nach geleisteter Unterschrift wurde die Befragung durchgeführt und die Abstriche der Tonsillen genommen sowie gegebenenfalls eine Lavage gemacht. Zur Auswertung wurden die erhobenen Daten, bestehend aus histologischen und zytologischen Befunden, dem HPV-Status und den Ergebnissen des Fragebogens dokumentiert und gespeichert. Vor der statistischen Auswertung wurden die Daten auf ihre Vollständigkeit, Korrektheit und Plausibilität geprüft. Die statistische Analyse erfolgte bei Gruppen mittels des Student's *t*-Test bei kontinuierlichen Ergebnissen, sowie dem Wahrscheinlichkeits-Verhältnis-Test χ^2 . Daten wurden als Mittel (SD) für kontinuierliche Daten oder Zählungen und Prozentsätze für kategorische Daten dargestellt.

3.7 Kosten und Sponsoring

Unterstützt wurde die Studie von Greiner Bio-One GmbH (Frickenhausen, Germany). Die PCR-Testung auf HPV wurde kostenfrei zur Verfügung gestellt. Greiner Bio-One GmbH hatte keinen Einfluss auf die Durchführung oder die Ergebnisse der Studie.

4. Ergebnisse

4.1 Studienkohorte und Zervikale HPV-Erkennung

235 Frauen wurden für die Studie gescreent. Davon waren 155 aus dem UKE und 80 aus der AK Altona rekrutiert worden. Von den 235 Patientinnen erhielten 223 (94,9%) einen zervikalen HPV-Test. 221 (94,0%) Frauen bekamen einen Abstrich der Tonsillen mittels PapCone® und 146 (62,1%) erhielten zusätzlich eine Mundspülung. Von den 223 Patientinnen, die einen zervikalen HPV-Test erhielten, wurden 207 (92,8%) HPV-positiv getestet. Ein HSIL wurde bei 161 (68,5%) der getesteten 235 Patientinnen histologisch bestätigt, 148 (91,9%) hatten zusätzlich einen positiven zervikalen HPV-Test. Bei den verbleibenden Patientinnen wurde kein Test durchgeführt (n = 8) oder der HPV-Test fiel negativ aus (HPV-) (n = 5). Bei 143 (88,8%) der 161 Patientinnen, wurden HR-HPV-Typen festgestellt. Hier mussten 8 Patientinnen der 143 ausgeschlossen werden, da orale Spülproben (n = 3) fehlten oder ein Alter über 45 Jahren (n = 5) angegeben wurde. Daraus ergab sich eine Kohorte von 135 Studienteilnehmerinnen, die HR-HPV positiv waren, eine histologisch bestätigte HSIL aufwiesen und auch die weiteren Einschlusskriterien zeigten. Häufig bestätigte HPV-Typen dieser Studienkohorte waren HPV 16 in 71 dieser zervikalen Proben (52,9%), HPV 31 in 12 (8,9%), HPV 56 in 10 (7,4%) und HPV 51 und 52 jeweils in 9 Proben (6,7%). Bei 94 der Proben (69,7%) wurde nur ein HPV Typ erkannt, 24 (17,8%) zeigten 2 HPV-Typen und 17 (12,6%) mehr als 2 verschiedene HPV-Typen. Eine Konisation in der Anamnese gaben 4 (2,9%) der 135 Studienteilnehmerinnen an. Von diesen 4 Patientinnen konnte bei 3 (75%) ein HPV-Typ 16 nachgewiesen werden und bei einer (25%) ein HPV-Typ 18. Keine der Patientinnen, die eine Konisation angaben, hatte eine orale HPV-Infektion. Die beiden verwendeten HPV-Tests (PapilloCheck®, Greiner Bio-One [GBO] und Roche Linear Array® HPV Genotyping/Detection Kit, Roche, Basel, Schweiz) zeigten dabei übereinstimmende Ergebnisse.

4.2 Oraler HPV-Status

In der Studienkohorte mit 135 Teilnehmerinnen, die HR-HPV positiv waren und eine histologische bestätigte HSIL hatten, konnte HPV-DNA bei 6 (4,4%) Patientinnen in den oralen Proben nachgewiesen werden. Von diesen 6 hatten 3 zusätzlich zum Tonsillen Abstrich eine orale Spülung erhalten. HPV konnte nicht häufiger

nachgewiesen werden, wenn Abstrich und Mundspüllösung kombiniert wurden. Nur 3 Patientinnen zeigten sowohl in den oralen Proben als auch im Zervixabstrich positive Ergebnisse für den gleichen HPV-Typ (HPV-Typ 16, 35 und 45).

4.3 Auswertung des Fragebogens

Die Auswertung des Fragebogens ergab folgendes Bild: Das mediane Alter der Patientinnen betrug 30 (21-45). 70,6% der Patientinnen lebten in festen Beziehungen und hatten bisher in ihrem Leben nicht mehr als 10 Sexualpartner. Alle praktizierten regelmäßig Zungenküsse und hatten in Ihrem Leben bisher etwa 15 verschiedene Kusspartner. Da nur 6 Patientinnen oral HPV positiv getestet wurden, gestaltete sich der Vergleich der Ergebnisse zwischen HPV positiven Patientinnen und HPV negativen Patientinnen schwierig. 100% der oral HPV positiven Patientinnen praktizierten aktuell Oralsex. Im Gegensatz dazu lag die Prozentzahl bei den HPV negativ getesteten Patientinnen etwas niedriger bei 93%. Etwa die Hälfte der oral HPV positiv getesteten Patientinnen verwendete Kondome beim Oralsex. Eine regelmäßige zahnärztliche Kontrolle oder Beratung gaben 16,7% der oral positiv getesteten Patientinnen im Gegensatz zu 48% der oral HPV negativ getesteten Patientinnen an.

5. Diskussion

Wir untersuchten in dieser Studie die orale HPV-Prävalenz bei Patientinnen mit hochgradiger zervikaler Dysplasie des Gebärmutterhalses unter der Annahme, dass Patientinnen mit persistenter zervikaler HPV-Infektion, abhängig vom Sexualverhalten, gefährdeter für eine anhaltende orale HPV-Infektion sein könnten. Mit 4,4% (6/135) zeigte sich im internationalen Vergleich eine niedrige orale HPV-Prävalenz in unserer zervikalen HPV positiven Kohorte. Wir verwendeten dabei für einen Teil der Kohorte zwei verschiedene Tests um die Ergebnisse überprüfen und vergleichen zu können. Für alle zervikalen Proben verwendeten wir den PapilloCheck® und zusätzlich erhielt eine Untergruppe Tests mit dem Roche Linear Array®. Auch die oralen Proben wurden mit beiden HPV-PCR-Tests überprüft. Die Korrektheit der niedrigen Erkennungsraten in den oralen Proben wird durch die vollständig übereinstimmenden Testergebnisse der beiden HPV-PCR-Assays unterstützt. Unsere Ergebnisse glichen der HPV-Prävalenz einer Studie aus den

USA, die eine Kohorte von gesunden StudienteilnehmerInnen im Alter von 30 bis 35 Jahren untersuchte (Gillison et al., 2012a). Auch jüngere Studien in Deutschland zeigten niedrige orale Prävalenzraten zwischen 3% und 5,7%. Die Studienkohorten hatten kleinere Fallzahlen und beinhalteten Frauen, die keine Anzeichen für ein Zervixkarzinom oder ein OSCC hatten. Sowohl für die zervikalen als auch für die oralen Proben wurde nur ein HPV-Test benutzt (Meyer et al., 2014, Uken et al., 2016). Auch wenn diese Studien und unsere Studienergebnisse eine niedrige HPV-Prävalenz aufweisen, könnte die wahre orale Prävalenz allgemein höher liegen. Die Gründe dafür könnten schwankende Muster der HPV-Infektion oder mögliche Stichprobenfehler bei der Probenentnahme sein, sodass z.B. der Speichel im Mund zu einer Verdünnung führt und somit abschwächt. Außerdem könnten die Tests selbst zu einer Verfälschung führen, da sie vor allem zur Detektion von anogenitalen HPV-Infektionen entwickelt wurden und die oralen Infektionen möglicherweise vorherrschend mit anderen HPV-Typen stattfinden. Zuletzt könnte auch die Mikroumgebung des Oropharynx die HPV-Erkennung beeinflussen oder behindern (Kellokoski et al., 1992). Die Ergebnisse unserer Studie zeigten nur drei Patientinnen, die konkordante HPV-Typen in den Zervix- und Tonsillarproben vorwiesen. Eine Schlussfolgerung bezüglich der möglichen Übertragungswege ist aufgrund der niedrigen Fallzahl nicht möglich. Verschiedene Möglichkeiten der Übertragung werden diskutiert. Eine Möglichkeit der Übertragung ist Autoinokulation, also eine Selbstinfektion durch Keimverschleppung. Allerdings zeigten frühere Studien von Smith et al. (Smith et al., 2004a) und Sahini et al. (Saini et al., 2011), dass Autoinokulation ein eher seltenes Ereignis zu sein scheint. Unser Fragebogen hat die Autoinokulation nicht erfragt. Die Ähnlichkeit der Risikofaktoren für HPV positive OSCC und Zervixkarzinome führen zu der Annahme, dass die Übertragung von HPV in den Oropharynx über Oralsex erfolgen könnte. Allerdings gibt es kaum wissenschaftlich fundierte Beweise dafür, dass die Übertragung von HPV in den Oropharynx tatsächlich über Oralverkehr geschieht. Gegen die Hypothese, dass Oralsex als Vektor für die Übertragung von HPV in die Mundhöhle dienen kann, spricht, dass 40% der Patienten mit OSCC weniger als 3 verschiedene Sexualpartner in ihrem Leben hatten und 8% bis 40% überhaupt keinen Oralsex praktizierten (Smith et al., 2004a, Gillison et al., 2008). Auch in unserer Studie konnten wir keinen Hinweis für eine Korrelation zwischen oraler HPV-Infektion und praktiziertem Oralsex erbringen, mit der Ausnahme, dass alle unserer HPV positiv

getesteten Patientinnen angaben, Oralsex zu praktizieren. Andere Studien zeigen ähnliche Ergebnisse. Brown et al. (Brown et al., 2011) und Giraldo et al. (Giraldo et al., 2006) zeigten, dass nur 7,6% der Frauen, die angaben Oralsex zu praktizieren, oral HPV positiv getestet werden konnten. Es gibt bisher kaum Studien, die sich auf die Übertragung und das gleichzeitige Auftreten von HPV der Zervix und des Oropharynx konzentrieren. Es gibt keine Studien, die die Art der Übertragung von HPV in den Mundraum eindeutig beweisen können. Eine ältere Studie wurde 1992 von Kellokoski et al. (Kellokoski et al., 1992) durchgeführt. Die Gruppe untersuchte Frauen, die zervikal HPV positiv getestet wurden. Sie entnahmen Proben der Mundschleimhaut und untersuchten diese mittels PCR und Southern Blot Hybridisation auf HPV. Das Ergebnis zeigte mit 15,6% bei der PCR Untersuchung und 29,4% bei der Southern Blot Hybridisation eine relativ hohe Prävalenz. Da alle Frauen klinisch eine gesunde Mundschleimhaut aufwiesen, schlussfolgerten die Autoren, dass die allgemeine Prävalenz überraschend hoch sei, aber die HPV-Infektion, wie auch oft im Genitaltrakt, nicht zu einer klinischen Manifestation führt. Eine große Metaanalyse der Literatur im Hinblick auf eine orale HPV-Infektion bei Frauen, die eine zervikale HPV-Infektion aufwiesen, wurde 2011 durchgeführt. Termine et al. (Termine et al., 2011) fanden eine hohe gepoolte orale HPV Prävalenz von 18,1%. Untersucht wurde auch die orale HPV Prävalenz bei Frauen, die eine HIV-Infektion aufwiesen. Hier wurde eine Prävalenz von 27,2% festgestellt. Die Ergebnisse der Metaanalyse zeigten insgesamt eine große Variation der Prävalenz zwischen den verschiedenen untersuchten Studien. Hierbei wiesen die Studien, die Bürsten-Abstriche zur Materialgewinnung verwendeten, mit 19,9% eine höhere HPV-Prävalenz auf (Termine et al., 2011). Obwohl vier der großen Studien keine identischen HPV-Typen in oralen und zervikalen Proben fanden, zeigten die anderen eine Konkordanz von 27% (95% CI: 12,3-41,7) von zervikalen und oralen HPV-Typen (Badaracco et al., 1998, Castro and Bussoloti Filho, 2006, Fakhry et al., 2006, Marais et al., 2008, Termine et al., 2009, Smith et al., 2004b, Canadas et al., 2004). Unterschiede gab es hier zwischen HIV-negativen Frauen und HIV-positiven Frauen. HIV-positive Frauen wiesen eine dreifach höhere Wahrscheinlichkeit auf, den gleichen HPV-Typ in oralen und zervikalen Proben zu haben als HIV-negative Frauen (46,8% vs. 15,6%). Dies deutet daraufhin, dass das Vorhandensein des gleichen HPV-Typs oral und zervikal von der systemischen Immunität abhängt und beeinflusst wird (Termine et al., 2011). Eine weitere Art der Infektion, könnte die

Übertragung von der Mutter auf den Fötus sein. Bei 80% der Neugeborenen von Frauen mit genitalem HPV-Nachweis konnte in nasopharyngealen Aspirationsproben oder in der oralen Schleimhaut HPV detektiert werden und dieser Zustand kann Monate bis Jahre anhalten (Rombaldi et al., 2009, Fredericks et al., 1993, Cason et al., 1995, Rintala et al., 2005). Allerdings ist bisher wenig darüber bekannt, inwiefern der HPV-Nachweis bei Neugeborenen eine Rolle spielt und, wenn ja, welche. Eine prospektive Kohortenstudie in Finnland, die HPV Familienstudie, untersuchte die Dynamik der HPV-Übertragung zwischen Eltern und Kindern (Rintala et al., 2005). Eine persistierende zervikale HR-HPV Infektion der Mutter zeigte sich als signifikanter Risikofaktor für eine orale HPV-Infektion der Säuglinge. Gleichzeitig war ein oraler HR-HPV der Mutter für einen 6 Monate alten Säugling ein Risikofaktor dafür, dass dieser auch genital mit HPV infiziert wird. Allerdings scheinen viele Faktoren eine Rolle zu spielen und die Übertragungswege sind hochkomplex. Sie sind unter anderem mit der Entwicklung des Immunsystems der Kinder in den ersten Lebensmonaten verbunden (Rintala et al., 2005). Zusätzlich zu den möglichen Übertragungswegen könnten verschiedene Risikofaktoren eine orale HPV-Infektion beeinflussen. Hierbei könnte auch die Mundhygiene von Bedeutung sein. Auch unsere Studie beschäftigte sich mit diesem Thema und fand heraus, dass 48,1% der oral HPV negativ getesteten Patientinnen sich regelmäßig zahnärztlicher Beratung und Behandlung unterziehen, während dies bei den HPV positiv getesteten Patientinnen nur 16,7% angaben. Allerdings kann dieses Ergebnis lediglich ein Hinweis sein, da unsere Zahlen zu klein sind, um endgültige Schlussfolgerungen ziehen zu können. Eine Studie, die 2013 veröffentlicht wurde (n=3439, im Alter von 30-69) zeigte, dass Menschen mit schlechter Mundhygiene unabhängig von anderen Risikofaktoren wie dem Rauchen oder verschiedenen Oralsexpartnern ein erhöhtes Risiko für eine orale HPV-Infektion haben (Bui et al., 2013). Die Gruppe schloss daraus, dass eine schlechte Mundhygiene mit den Folgen von Ulzera, Schleimhautstörungen und chronischen Entzündungen die Anfälligkeit für HPV steigert und somit eine gute Mundhygiene auch zu einer guten Mundgesundheit beiträgt. 2015 wurde eine weitere Studie von Bui et al. (Bui et al., 2015) zu diesem Thema durchgeführt. Hierbei wurde die selbstgemeldete Mundgesundheit, Mundhygiene und die orale HPV-Infektion bei gefährdeten Frauen (n=126, Alter 18-45) in Vietnam untersucht. Es zeigte sich eine höhere HPV-Prävalenz bei Patienten, die ihre Mundhygiene als schlecht bewerteten. Die Häufigkeit des Zähneputzens war

dafür aber nicht relevant (Bui et al., 2015). Neben weiteren Untersuchungen zu den bisher genannten möglichen Übertragungswegen und Risikofaktoren wäre es für die Zukunft interessant, wie der HPV-Status von Sexualpartnern infizierter Frauen aussieht. Drei Studien führten eine gleichzeitige Testung der Oralsexpartner durch (Meyer et al., 2014, Uken et al., 2016, Smith et al., 2004b), wobei zwei der drei Studien in Deutschland durchgeführt wurden. Interessanterweise zeigte keine der Studien eine signifikante Übereinstimmung mit der zervikalen und/oder oralen HPV-Infektion der Frauen. Smith et al. (Smith et al., 2004b) testete 68 männliche Partner von Frauen, die schwanger waren und einen zervikal HPV-positiven Abstrich in der Anamnese hatten. Die Männer wurden mittels einer Mundspülung auf HPV getestet. Zwar konnte die Gruppe ein Ergebnis von 5,9% an oral HPV-positiv getesteten Männern vorweisen, allerdings hatte keine Frau eines positiv getesteten Sexualpartners eine aktuelle HPV-Infektion, weder oral noch zervikal (Smith et al., 2004b). Eine weitere Studie wurde von Uken et al. (Uken et al., 2016) durchgeführt. Eingeschlossen in die Studie wurden 101 Frauen mit zervikalen Dysplasien und einem zervikal positiven HPV-Test. Eine HPV-Testung im Oropharynx der Frauen ergab nur bei drei Frauen ein positives Ergebnis. Für die simultane Testung der Sexualpartner der 101 Frauen konnten 60 Frauen gewonnen werden. Von den 60 Frauen hatten nur drei (5%) einen positiv getesteten Sexualpartner. Nur ein einziger Fall ergab den gleichen HPV-Typ (HPV-Typ 16) beim zervikalen HPV-Test der Frauen und dem simultanen Test des Oropharynx des Sexualpartners. Passend zu den Ergebnissen unserer Studie postulierten Uken et al., dass die orale HPV-Prävalenz bei Frauen mit HPV-assoziiierter Dysplasie der Zervix sehr niedrig ist und die Übertragung von HPV über Oralsex in den Oropharynx oder eine Selbstinfektion ein seltenes Ereignis zu sein scheint (Uken et al., 2016). Die Frage, warum es zwischen genitaler und oraler HPV-Infektion keine Korrelation gibt, bleibt weiterhin unbeantwortet. Orale HPV- Infektionen scheinen häufiger transient zu sein als zervikale HPV-Infektionen (Brouwer et al., 2022). Unterschiedlichen Mechanismen der Viruselimination der Schleimhäute an Zervix und Oropharynx könnten eine Rolle spielen (Meyer et al., 2014, Preuss et al., 2011). Weiterhin ist in diesem Zusammenhang die Frage ungeklärt, warum mehr Männer an HPV-assoziierten OSCC erkranken als Frauen (Chaturvedi et al., 2008, Sathish et al., 2014). Nachgewiesen ist, dass die Inzidenz von HPV-assoziierten OSCC in beiden Geschlechtern steigt (Chaturvedi et al., 2008). Es könnte eine protektive Wirkung

durch frühere zervikale HPV-Infektionen bei Frauen geben (Sathish et al., 2014). Immer noch ist nicht ausreichend über die biologischen Zusammenhänge bekannt, die zu einem HPV-assoziierten OSCC führen können. In der Hals-Nasen-Ohren Heilkunde hofft man, ein geeignetes Screening- Verfahren zu finden, wie es bereits bei HPV-assoziierten Dysplasien der Zervix genutzt wird, um ein früheres Eingreifen beim OSCC möglich zu machen. Eine Messung von Antikörpern, die entstehen können, wenn HPV-Infektionen der Oropharynxregion vorliegen, könnten in Zukunft ein vielversprechendes Instrument, zur Früherkennung und Verlaufskontrolle von HPV-bedingten Erkrankungen darstellen (Weiland et al., 2020). Unsere Daten weisen darauf hin, dass eine Übertragung von einer HPV-Infektion der Zervix in den Oropharynx selten ist. Es scheint keinen Vorteil zu bringen, Frauen mit einer zervikalen Dysplasie auch oropharyngeal auf HPV zu testen, um eine frühere Detektion von Patienten mit einem erhöhten Risiko für HPV-assoziierten OSCC zu erreichen. Es sind noch mehr Daten und Studien nötig, um sowohl ein besseres Verständnis für die Übertragung von HPV zu erhalten als auch die Ursache der Infektion, die HPV-assoziierte orale Karzinogenese, sowie die Faktoren, die eine gleichzeitige orale und genitale HPV-Infektion bei Männern und Frauen begünstigen, besser verstehen zu können.

6. Literaturverzeichnis

- ANTONSSON, A., CORNFORD, M., PERRY, S., DAVIS, M., DUNNE, M. P. & WHITEMAN, D. C. 2014. Prevalence and risk factors for oral HPV infection in young Australians. *PLoS One*, 9, e91761.
- BADARACCO, G., VENUTI, A., DI LONARDO, A., SCAMBIA, G., MOZZETTI, S., BENEDETTI PANICI, P., MANCUSO, S. & MARCANTE, M. L. 1998. Concurrent HPV infection in oral and genital mucosa. *J Oral Pathol Med*, 27, 130-4.
- BERNARD, H. U. 2005. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *J Clin Virol*, 32 Suppl 1, S1-6.
- BROUWER, A. F., CAMPREDON, L. P., WALLINE, H. M., MARINELLI, B. M., GOUDSMIT, C. M., THOMAS, T. B., DELINGER, R. L., LAU, Y. K., ANDRUS, E. C., NAIR, T., CAREY, T. E., EISENBERG, M. C. & MEZA, R. 2022. Incidence and clearance of oral and cervicogenital HPV infection: longitudinal analysis of the MHOC cohort study. *BMJ Open*, 12, e056502.
- BROWN, B., BLAS, M. M., CABRAL, A., CARCAMO, C., GRAVITT, P. E. & HALSEY, N. 2011. Oral sex practices, oral human papillomavirus and correlations between oral and cervical human papillomavirus prevalence among female sex workers in Lima, Peru. *Int J STD AIDS*, 22, 655-8.
- BUI, T. C., MARKHAM, C. M., ROSS, M. W. & MULLEN, P. D. 2013. Examining the association between oral health and oral HPV infection. *Cancer Prev Res (Phila)*, 6, 917-24.
- BUI, T. C., TRAN, L. T., MARKHAM, C. M., HUYNH, T. T., TRAN, L. T., PHAM, V. T., TRAN, Q. M., HOANG, N. H., HWANG, L. Y. & STURGIS, E. M. 2015. Self-reported oral health, oral hygiene, and oral HPV infection in at-risk women in Ho Chi Minh City, Vietnam. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 120, 34-42.
- BURD, E. M. 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev*, 16, 1-17.
- CANADAS, M. P., BOSCH, F. X., JUNQUERA, M. L., EJARQUE, M., FONT, R., ORDONEZ, E. & DE SANJOSE, S. 2004. Concordance of prevalence of human papillomavirus DNA in anogenital and oral infections in a high-risk population. *J Clin Microbiol*, 42, 1330-2.
- CANDOTTO, V., LAURITANO, D., NARDONE, M., BAGGI, L., ARCURI, C., GATTO, R., GAUDIO, R. M., SPADARI, F. & CARINCI, F. 2017. HPV infection in the oral cavity: epidemiology, clinical manifestations and relationship with oral cancer. *Oral Implantol (Rome)*, 10, 209-220.
- CASON, J., KAYE, J. N., JEWERS, R. J., KAMBO, P. K., BIBLE, J. M., KELL, B., SHERGILL, B., PAKARIAN, F., RAJU, K. S. & BEST, J. M. 1995. Perinatal infection and persistence of human papillomavirus types 16 and 18 in infants. *J Med Virol*, 47, 209-18.
- CASTRO, T. P. & BUSSOLOTI FILHO, I. 2006. Prevalence of human papillomavirus (HPV) in oral cavity and oropharynx. *Braz J Otorhinolaryngol*, 72, 272-82.
- CHAN, J. K. & BEREK, J. S. 2007. Impact of the human papilloma vaccine on cervical cancer. *J Clin Oncol*, 25, 2975-82.
- CHANG, F., SYRJANEN, S., KELLOKOSKI, J. & SYRJANEN, K. 1991. Human papillomavirus (HPV) infections and their associations with oral disease. *J Oral Pathol Med*, 20, 305-17.
- CHATURVEDI, A. K. 2012. Epidemiology and clinical aspects of HPV in head and neck cancers. *Head Neck Pathol*, 6 Suppl 1, S16-24.

- CHATURVEDI, A. K., ENGELS, E. A., ANDERSON, W. F. & GILLISON, M. L. 2008. Incidence trends for human papillomavirus-related and -unrelated oral squamous cell carcinomas in the United States. *J Clin Oncol*, 26, 612-9.
- D'SOUZA, G., AGRAWAL, Y., HALPERN, J., BODISON, S. & GILLISON, M. L. 2009. Oral sexual behaviors associated with prevalent oral human papillomavirus infection. *J Infect Dis*, 199, 1263-9.
- D'SOUZA, G., MCNEEL, T. S. & FAKHRY, C. 2017. Understanding personal risk of oropharyngeal cancer: risk-groups for oncogenic oral HPV infection and oropharyngeal cancer. *Ann Oncol*, 28, 3065-3069.
- DALLA TORRE, D., BURTSCHER, D., SOLDER, E., WIDSCHWENDTER, A., RASSE, M. & PUELACHER, W. 2016. The impact of sexual behavior on oral HPV infections in young unvaccinated adults. *Clin Oral Investig*, 20, 1551-7.
- DE MARTEL, C., PLUMMER, M., VIGNAT, J. & FRANCESCHI, S. 2017. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. *Int J Cancer*, 141, 664-670.
- DE VILLIERS, E. M. 2013. Cross-roads in the classification of papillomaviruses. *Virology*, 445, 2-10.
- DELERE, Y., REMSCHMIDT, C., LEUSCHNER, J., SCHUSTER, M., FESENFELD, M., SCHNEIDER, A., WICHMANN, O. & KAUFMANN, A. M. 2014. Human Papillomavirus prevalence and probable first effects of vaccination in 20 to 25 year-old women in Germany: a population-based cross-sectional study via home-based self-sampling. *BMC Infect Dis*, 14, 87.
- DESCHLER, D. G., RICHMON, J. D., KHARIWALA, S. S., FERRIS, R. L. & WANG, M. B. 2014. The "new" head and neck cancer patient-young, nonsmoker, nondrinker, and HPV positive: evaluation. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 151, 375-80.
- EDELSTEIN, Z. R., SCHWARTZ, S. M., HAWES, S., HUGHES, J. P., FENG, Q., STERN, M. E., O'REILLY, S., LEE, S. K., FU XI, L. & KOUTSKY, L. A. 2012. Rates and determinants of oral human papillomavirus infection in young men. *Sex Transm Dis*, 39, 860-7.
- FAKHRY, C., D'SOUZA, G., SUGAR, E., WEBER, K., GOSHU, E., MINKOFF, H., WRIGHT, R., SEABERG, E. & GILLISON, M. 2006. Relationship between prevalent oral and cervical human papillomavirus infections in human immunodeficiency virus-positive and -negative women. *J Clin Microbiol*, 44, 4479-85.
- FREDERICKS, B. D., BALKIN, A., DANIEL, H. W., SCHONROCK, J., WARD, B. & FRAZER, I. H. 1993. Transmission of human papillomaviruses from mother to child. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 33, 30-2.
- GILLISON, M. L., ALEMANY, L., SNIJDERS, P. J., CHATURVEDI, A., STEINBERG, B. M., SCHWARTZ, S. & CASTELLSAGUE, X. 2012a. Human papillomavirus and diseases of the upper airway: head and neck cancer and respiratory papillomatosis. *Vaccine*, 30 Suppl 5, F34-54.
- GILLISON, M. L., BROUTIAN, T., PICKARD, R. K., TONG, Z. Y., XIAO, W., KAHLE, L., GRAUBARD, B. I. & CHATURVEDI, A. K. 2012b. Prevalence of oral HPV infection in the United States, 2009-2010. *JAMA*, 307, 693-703.
- GILLISON, M. L., D'SOUZA, G., WESTRA, W., SUGAR, E., XIAO, W., BEGUM, S. & VISCIDI, R. 2008. Distinct risk factor profiles for human papillomavirus type 16-positive and human papillomavirus type 16-negative head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst*, 100, 407-20.
- GIRALDO, P., GONCALVES, A. K., PEREIRA, S. A., BARROS-MAZON, S., GONDO, M. L. & WITKIN, S. S. 2006. Human papillomavirus in the oral

- mucosa of women with genital human papillomavirus lesions. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 126, 104-6.
- GIULIANO, A. R., NYITRAY, A. G., KREIMER, A. R., PIERCE CAMPBELL, C. M., GOODMAN, M. T., SUDENGA, S. L., MONSONEGO, J. & FRANCESCHI, S. 2015. EUROGIN 2014 roadmap: differences in human papillomavirus infection natural history, transmission and human papillomavirus-related cancer incidence by gender and anatomic site of infection. *Int J Cancer*, 136, 2752-60.
- GREEN, J., BERRINGTON DE GONZALEZ, A., SWEETLAND, S., BERAL, V., CHILVERS, C., CROSSLEY, B., DEACON, J., HERMON, C., JHA, P., MANT, D., PETO, J., PIKE, M. & VESSEY, M. P. 2003. Risk factors for adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the cervix in women aged 20-44 years: the UK National Case-Control Study of Cervical Cancer. *Br J Cancer*, 89, 2078-86.
- HERRERO, R., CASTELLSAGUE, X., PAWLITA, M., LISSOWSKA, J., KEE, F., BALARAM, P., RAJKUMAR, T., SRIDHAR, H., ROSE, B., PINTOS, J., FERNANDEZ, L., IDRIS, A., SANCHEZ, M. J., NIETO, A., TALAMINI, R., TAVANI, A., BOSCH, F. X., REIDEL, U., SNIJDERS, P. J., MEIJER, C. J., VISCIDI, R., MUNOZ, N., FRANCESCHI, S. & GROUP, I. M. O. C. S. 2003. Human papillomavirus and oral cancer: the International Agency for Research on Cancer multicenter study. *J Natl Cancer Inst*, 95, 1772-83.
- HOFFMANN, M., TRIBIUS, S., QUABIUS, E. S., HENRY, H., PFANNENSCHMIDT, S., BURKHARDT, C., GOROGH, T., HALEC, G., HOFFMANN, A. S., KAHN, T., ROCKEN, C., HAAG, J., WATERBOER, T. & SCHMITT, M. 2012. HPV DNA, E6*I-mRNA expression and p16INK4A immunohistochemistry in head and neck cancer - how valid is p16INK4A as surrogate marker? *Cancer Lett*, 323, 88-96.
- HOLZINGER, D., SCHMITT, M., DYCKHOFF, G., BENNER, A., PAWLITA, M. & BOSCH, F. X. 2012. Viral RNA patterns and high viral load reliably define oropharynx carcinomas with active HPV16 involvement. *Cancer Res*, 72, 4993-5003.
- KELLOKOSKI, J., SYRJANEN, S., YLISKOSKI, M. & SYRJANEN, K. 1992. Dot blot hybridization in detection of human papillomavirus (HPV) infections in the oral cavity of women with genital HPV infections. *Oral Microbiol Immunol*, 7, 19-23.
- KOUTSKY, L. 1997. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Am J Med*, 102, 3-8.
- KREIMER, A. R., BHATIA, R. K., MESSEGUER, A. L., GONZALEZ, P., HERRERO, R. & GIULIANO, A. R. 2010. Oral human papillomavirus in healthy individuals: a systematic review of the literature. *Sex Transm Dis*, 37, 386-91.
- LUPATO, V., HOLZINGER, D., HOFER, D., MENEGALDO, A., GIORGI ROSSI, P., DEL MISTRO, A., DA MOSTO, M. C., PAWLITA, M. & BOSCOLO-RIZZO, P. 2017. Prevalence and Determinants of Oral Human Papillomavirus Infection in 500 Young Adults from Italy. *PLoS One*, 12, e0170091.
- MARAI, D. J., PASSMORE, J. A., DENNY, L., SAMPSON, C., ALLAN, B. R. & WILLIAMSON, A. L. 2008. Cervical and oral human papillomavirus types in HIV-1 positive and negative women with cervical disease in South Africa. *J Med Virol*, 80, 953-9.
- MARTIN-HERNAN, F., SANCHEZ-HERNANDEZ, J. G., CANO, J., CAMPO, J. & DEL ROMERO, J. 2013. Oral cancer, HPV infection and evidence of sexual transmission. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 18, e439-44.

- MCQUILLAN, G., KRUSZON-MORAN, D., MARKOWITZ, L. E., UNGER, E. R. & PAULOSE-RAM, R. 2017. Prevalence of HPV in Adults Aged 18-69: United States, 2011-2014. *NCHS Data Brief*, 1-8.
- MEYER, M. F., HUEBBERS, C. U., SIEFER, O. G., VENT, J., ENGBERT, I., ESLICK, G. D., VALTER, M., KLUSSMANN, J. P. & PREUSS, S. F. 2014. Prevalence and risk factors for oral human papillomavirus infection in 129 women screened for cervical HPV infection. *Oral Oncol*, 50, 27-31.
- PARKIN, D. M. & BRAY, F. 2006. Chapter 2: The burden of HPV-related cancers. *Vaccine*, 24 Suppl 3, S3/11-25.
- PREUSS, S. F., KLUSSMANN, J. P., SEMRAU, R. & HUEBBERS, C. 2011. [Update on HPV-induced oropharyngeal cancer]. *HNO*, 59, 1031-7; quiz 1038.
- QUABIUS, E. S., HAAG, J., KÜHNEL, A., HENRY, H., HOFFMANN, A. S., GÖRÖGH, T., HEDDERICH, J., EVERT, M., BEULE, A. G., MAUNE, S., KNECHT, R., ÓVÁRI, A., DURISIN, M., HOPPE, F., TRIBIUS, S., RÖCKEN, C., AMBROSCH, P. & HOFFMANN, M. 2015. Geographical and anatomical influences on human papillomavirus prevalence diversity in head and neck squamous cell carcinoma in Germany. *Int J Oncol*, 46, 414-22.
- RINTALA, M. A., GRENNAN, S. E., PURANEN, M. H., ISOLAURI, E., EKBLAD, U., KERO, P. O. & SYRJANEN, S. M. 2005. Transmission of high-risk human papillomavirus (HPV) between parents and infant: a prospective study of HPV in families in Finland. *J Clin Microbiol*, 43, 376-81.
- ROMBALDI, R. L., SERAFINI, E. P., MANDELLI, J., ZIMMERMANN, E. & LOSQUIAVO, K. P. 2009. Perinatal transmission of human papillomavirus DNA. *Viol J*, 6, 83.
- SAINI, R., TANG, T. H., ZAIN, R. B., CHEONG, S. C., MUSA, K. I., SAINI, D., ISMAIL, A. R., ABRAHAM, M. T., MUSTAFA, W. M. & SANTHANAM, J. 2011. Significant association of high-risk human papillomavirus (HPV) but not of p53 polymorphisms with oral squamous cell carcinomas in Malaysia. *J Cancer Res Clin Oncol*, 137, 311-20.
- SATHISH, N., WANG, X. & YUAN, Y. 2014. Human Papillomavirus (HPV)-associated Oral Cancers and Treatment Strategies. *J Dent Res*, 93, 29S-36S.
- SMITH, E. M., RITCHIE, J. M., SUMMERSGILL, K. F., KLUSSMANN, J. P., LEE, J. H., WANG, D., HAUGEN, T. H. & TUREK, L. P. 2004a. Age, sexual behavior and human papillomavirus infection in oral cavity and oropharyngeal cancers. *Int J Cancer*, 108, 766-72.
- SMITH, E. M., RITCHIE, J. M., YANKOWITZ, J., WANG, D., TUREK, L. P. & HAUGEN, T. H. 2004b. HPV prevalence and concordance in the cervix and oral cavity of pregnant women. *Infect Dis Obstet Gynecol*, 12, 45-56.
- STURGIS, E. M. & ANG, K. K. 2011. The epidemic of HPV-associated oropharyngeal cancer is here: is it time to change our treatment paradigms? *J Natl Compr Canc Netw*, 9, 665-73.
- TERMINE, N., GIOVANNELLI, L., MATRANGA, D., CALECA, M. P., BELLAVIA, C., PERINO, A. & CAMPISI, G. 2011. Oral human papillomavirus infection in women with cervical HPV infection: new data from an Italian cohort and a meta-analysis of the literature. *Oral Oncol*, 47, 244-50.
- TERMINE, N., GIOVANNELLI, L., MATRANGA, D., PERINO, A., PANZARELLA, V., AMMATUNA, P., D'ANGELO, M. & CAMPISI, G. 2009. Low rate of oral human papillomavirus (HPV) infection in women screened for cervical HPV infection in Southern Italy: A cross-sectional study of 140 immunocompetent subjects. *J Med Virol*, 81, 1438-43.

- UKEN, R. B., BRUMMER, O., VON SCHUBERT-BAYER, C., BRODEGGER, T. & TEUDT, I. U. 2016. Oral HPV prevalence in women positive for cervical HPV infection and their sexual partners: a German screening study. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 273, 1933-42.
- WEILAND, T., ECKERT, A., TOMAZIC, P. V., WOLF, A., PONDORFER, P., VASICEK, S., GRAUPP, M., HOLZMEISTER, C., MOSER, U., ANDRIANAKIS, A., KANGLER, G., KISS, P., BRCIC, L., KAPPLER, M., WICKENHAUSER, C., HAAK, A., KRÜGER, M., AL-NAWAS, B., BLATT, S., BROCKMEYER, N., SKALETZ-ROROWSKI, A., POTTHOFF, A., FRENCH, L. E., CHARNOWSKI, S., REINHOLZ, M., KAUFMANN, A. M., THIES, S., LAMBRECHT, H. G., SELIGER, B., WILD, D. C. & THURNHER, D. 2020. DRH1 - a novel blood-based HPV tumour marker. *EBioMedicine*, 56, 102804.
- WITTEKINDT, C., WAGNER, S. & KLUSSMANN, J. P. 2011. [HPV-associated head and neck cancer. The basics of molecular and translational research]. *HNO*, 59, 885-92.
- WITTEKINDT, C., WAGNER, S., MAYER, C. S. & KLUSSMANN, J. P. 2012. Basics of tumor development and importance of human papilloma virus (HPV) for head and neck cancer. *GMS Curr Top Otorhinolaryngol Head Neck Surg*, 11, Doc09.
- YOUNG, D., XIAO, C. C., MURPHY, B., MOORE, M., FAKHRY, C. & DAY, T. A. 2015. Increase in head and neck cancer in younger patients due to human papillomavirus (HPV). *Oral Oncol*, 51, 727-30.
- ZUR HAUSEN, H. 1999. Papillomaviruses in human cancers. *Proc Assoc Am Physicians*, 111, 581-7.
- ZUR HAUSEN, H. 2002. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer*, 2, 342-50.

7. Abkürzungsverzeichnis

AK: Asklepios Klinik

DNA: Desoxiribonucleinsäure

HPV: Humane Papilloma Viren

HR: high risk

HSIL: Hochgradige squamöse intraepitheliale Läsionen

LR: low risk

NACL: Natriumchlorid

OSCC: orale Plattenepithelkarzinome, oral suamous cell carcinoma

PCR: Polymerase Kettenreaktion

UKE: Universitätsklinikum Eppendorf

8. Kurzfassung Deutsch

Infektionen mit Humanen Papilloma Viren (HPV) gehören weltweit zu den häufigsten sexuell übertragbaren Infektionen. Eine genitale HPV Infektion ist die Ursache für einen Großteil der hochgradigen intraepithelialen squamösen Läsionen (HSIL) und damit auch für invasive Zervixkarzinome. Mittlerweile ist auch bekannt, dass ein steigender Anteil der oralen Plattenepithelkarzinome (oral squamous cell carcinoma, OSCC) HPV-induziert ist. Die Infektionswege und auch die Risikofaktoren für eine Infektion sind dabei noch nicht ausreichend erforscht. Ein Zusammenhang mit dem Sexualverhalten wird diskutiert.

In der Annahme, dass Patientinnen, mit einer HPV-induzierten HSIL auch gefährdeter für eine persistierende orale HPV- Infektion sind, wurde diese prospektive Studie konzipiert, um die Koprävalenz von Infektion der Zervix und des Oropharynx mit HPV- high risk(hr)Typen bei Frauen mit zervikalen Dysplasien zu untersuchen. Dafür wurden Patientinnen, die wegen eines auffälligen zervikalen zytologischen Befundes und einen positiven HPV-Test, in die Dysplasiesprechstunde des UKE und des AK Altona kamen zervikal und oral auf HPV getestet. Die Testung im Rachen erfolgte mit einem Abstrich und für einen Teil der Studienteilnehmerinnen zusätzlich mit einer oralen Lavage um die Methoden miteinander vergleichen zu können. Zusätzlich wurden Daten zu Sexualverhalten und Lebensstil mit Hilfe eines Fragebogens erhoben.

Für die Studie wurden 235 Patientinnen gescreent. Daraus ergab sich eine Studienkohorte von 135 Patientinnen, mit sowohl einer hochgradigen zervikalen intraepithelialen Neoplasie (CIN) als auch einem bestätigten zervikalen HPV-Test. Die dazugehörigen oralen Proben, zeigten nur in 6 Fällen ein positives Ergebnis. Nur drei davon waren für den gleichen HPV-Typ positiv (16,35,45). Dabei zeigte sich keine höhere HPV-Erkennungsrate, wenn der Tonsillenabstrich mit der oralen Lavage kombiniert wurde. Die Auswertung des Fragebogens konnte keinen Zusammenhang zwischen dem Sexualverhalten und einem erhöhten Risiko für eine orale HPV- Infektion demonstrieren.

Die Ergebnisse zeigen, dass die orale HPV- Prävalenz bei Frauen mit HPV-induzierter HSIL gering ist. Es erscheint daher nicht sinnvoll diese Frauen einem oralen Screening zu unterziehen.

9. Kurzfassung Englisch

Infections with HPV (Human Papilloma Virus) are among the most common sexually transmitted infections worldwide. Genital HPV infection is the cause of HSIL and thus also of invasive cervical cancer. It is now also known that an increasing proportion of OSCC (oral squamous cell carcinoma) is HPV-induced. The routes of infection and the risk factors for infection have not yet been adequately researched. A connection with sexual behavior is discussed.

Assuming that patients with HPV-induced HSIL are also more at risk for persistent oral HPV infection, this prospective study was designed to investigate the co-prevalence of cervical and oropharyngeal infection with high-risk(hr) HPV types. For this purpose, patients who came to the dysplasia clinic of the UKE and the AK Altona because of an abnormal cervical cytological finding and a positive HPV test were tested cervically and orally for HPV. The oral test was carried out with a swab and, for some of the study participants, also with an oral lavage in order to be able to compare the methods with each other. In addition, data on sexual behavior and lifestyle was collected, using a questionnaire.

235 patients were screened for the study. This resulted in a study cohort of 135 patients with both HSIL and a confirmed cervical hr-HPV test. The associated oral samples showed a positive result in only 6 cases. Only three of these were positive for the same HPV type (16,35,45) as detected genitally. There was no higher HPV detection rate when tonsil swab was combined with oral lavage. The evaluation of the questionnaire did not show any connection between sexual behavior and an increased risk of oral HPV infection.

The results demonstrate that oral HPV prevalence is low in women with HPV-induced HSIL. It therefore does not seem sensible to subject these women to oral screening.

10. Erklärung des Eigenanteils an der Publikation

Hiermit erkläre ich, Julia Nitz, dass ich den unten beschriebenen Anteil an der folgenden Publikation geleistet habe:

J Low Genit Tract Dis. 2017 Jul;21(3):177-183. doi:
10.1097/LGT.0000000000000313. PMID: 28481782.

Oral Human Papillomavirus in Women With High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia

Linn Woelber, MD,¹ Julia Breuer, MD,¹ Thomas Meyer, PhD,² Eik Vettorazzi,³
Katharina Prieske, MD,¹ Inga Bohlmann, MD,¹ Chia-Jung Busch, MD,⁴ Ingo Teudt,
MD,^{5,6} Oliver Brummer, MD,^{7,8} Volkmar Mueller, MD,¹ Barbara Schmalfeldt, MD,¹ and
Donata Grimm, MD¹

L.W. and J.B. contributed equally.

Die Anteile der Arbeit waren folgende:

- Julia Nitz: Patientenrekrutierung, Patientenaufklärung, Patientenbefragung, die Durchführung der oralen Lavage und des Tonsillenabstrichs, Dokumentation der Daten, Auswertung der Daten, Erstellung des Manuskripts,
- PD. Dr. med. Donata Grimm: Erstellung des Studiendesigns, Ethikantrag, Betreuung der gesamten klinischen Arbeit und der Auswertung der Daten, Erstellung und Korrektur des Manuskripts.
- Prof. Dr. med. Linn Wölber: Doktormutter, Erstellung des Studiendesigns, Erstellung und Korrektur des Manuskripts.
- PD. Dr. med. Thomas Meyer: mikrobiologische Testung der Proben
- Eik Vettorazzi: Statistischen Auswertung, statistische Beratung
- Dr. med. Ingo Teudt: Patientenrekrutierung, Patientenbefragung im AK Altona, Mitgestaltung und Korrektur des Manuskripts.
- Unterstützend beteiligt waren: PD Dr. med. Katharina Prieske, Dr. med. Inga Bohlmann, Prof. Dr. med. Chia-Jung Busch, Dr. med. Oliver Brummer, Prof. Dr. med. Volkmar Mueller, Prof. med. Barbara Schmalfeldt.

11. Danksagung

Ganz herzlich möchte ich mich bei meiner Doktormutter Prof. Dr. med. Linn Wölber für die nette Betreuung und gerade am Schluss, sehr schnelle und zielgerichtete Korrektur bedanken.

Großer Dank gebührt PD. Dr. med. Donata Grimm, die mich erstklassig während der gesamten Arbeit betreut, unterstützt motiviert und gefördert hat.

Ohne Dich wäre das Ganze nicht möglich gewesen!

Außerdem möchte ich mich bei allen Studienteilnehmerinnen bedanken, die großes Vertrauen gezeigt haben und mit ihrer Teilnahme bereit waren mir auch sehr persönliche Dinge anzuvertrauen.

Besonderer Dank gilt außerdem meiner Familie, insbesondere, meinen Eltern, Schwiegereltern und meinem Mann, die mir den nötigen Freiraum geschaffen haben, um diese Arbeit fertig stellen zu können.

Bedanken möchte ich mich auch bei meinen Freunden Frauke und Flo, die mir immer wieder bei Formatierungsproblemen geholfen haben und auch sonst immer für Fragen offen waren.

Als letztes möchte ich mich noch bei meinem Sohn bedanken, denn auch wenn er noch ganz klein ist, hat er mich motiviert diese Arbeit schlussendlich fertig zu stellen.

12. Lebenslauf: entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen

13. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: