

**Aus der Klinik und Poliklinik für
Frauenheilkunde und Geburtshilfe –
Großhadern
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Klaus Friese**

Thema der Dissertation

**Prognostische Signifikanz der Expression von Estrogenrezeptor alpha (ER- α)
und beta (ER- β), Progesteronrezeptor A (PR-A) und
B (PR-B) in Endometriumkarzinomen**

Dissertation

**Zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin an der
Medizinischen Fakultät der
Ludwig Maximilians Universität zu München**

Vorgelegt von

Naim Shabani

aus Gerdofc (Kosova)

2008

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. rer. nat. habil. Udo Jeschke

Mitberichterstatter: Prof. Dr. St. Enders

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. Ioannis Mylonas

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 24.01.2008

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung -----	5
2	Summary-----	6
3	Einleitung -----	8
3.1	Epidemiologie des Endometriumkarzinoms -----	8
3.2	Ätiologie und Pathogenese des Endometriumkarzinoms-----	9
3.3	Präkanzerosen und histologische Klassifikation-----	10
3.3.1	Präkanzerosen des Endometriumkarzinoms-----	10
3.3.2	Histologische Klassifikation des Endometriumkarzinoms-----	12
3.4.	Diagnostik des Endometriumkarzinoms-----	13
3.5	Staging und Therapie-----	14
3.5.1	Staging-----	14
3.5.2	Operative Therapie-----	14
3.5.3	Radiotherapie-----	15
3.5.4	Chemotherapie-----	16
3.6	Prognostische Faktoren des Endometriumkarzinoms-----	16
3.6.1	Estrogen- (ER) und Progesteronrezeptoren (PR)-----	17
4	Fragestellung -----	18

5	Material und Methoden-----	19
5.1	Gewebeproben-----	19
5.2	Immunohistochemie-----	21
5.3	Immunohistochemische Auswertung -----	24
5.4	Statistische Analyse-----	25
6	Ergebnisse -----	26
6.1	Klinisch-pathologische Charakterisierung-----	26
6.2	Die Proben des Endometriumkarzinoms -----	27
6.2.1	Estrogenrezeptoren -----	27
6.2.2	Progesteronrezeptoren-----	28
6.3	Überlebensanalyse-----	29
7	Diskussion-----	31
8	Literaturverzeichnis-----	35
9	Danksagung-----	42
10	Abkürzungen -----	43
11	Tabellen, Abbildungen und Legende -----	44
12	Lebenslauf -----	60

Das Endometriumkarzinom ist eines der häufigsten gynäkologischen Malignome und macht circa 6% aller bösartigen Neubildungen bei Frauen aus. Das humane Endometrium exprimiert Estrogen- (ER) und Progesteronrezeptoren (PR), welche in Zusammenhang mit endokrinen, autokrinen und parakrinen Prozessen stehen und auf die Hormone Estrogen und Progesteron antworten. Die Korrelation zwischen der Expression klassischer Steroidrezeptoren, Estrogenrezeptor alpha (ER- α) und Progesteronrezeptor A (PR-A) und dem Stadium, dem histologischen Grad und dem gesamten Überleben wurde in mehreren Studien nachgewiesen. Das Ziel dieser Arbeit war es, die Verteilung der Steroidrezeptoren Estrogenrezeptor alpha (ER- α), Estrogenrezeptor beta (ER- β), Progesteronrezeptor A (PR-A) und Progesteronrezeptor B (PR-B) in bösartigen humanen Endometriumzellen zu bestimmen, sowie dies in Assoziation mit verschiedenen klinisch-pathologischen Merkmalen des Endometriumkarzinoms und mit klinischem Outcome zu bewerten.

Es wurde eine Serie von 293 Endometriumkarzinomen mit immunohistochemischen Methoden und mit monoklonalen Antikörpern gegen vier Steroidrezeptoren analysiert.

Der Verlust der Rezeptorpositivität für ER- α , PR-A und PR-B hatte eine geringere Überlebenschance für Patientinnen mit Endometriumkarzinom zur Folge, während die ER- β Expression keinen Zusammenhang mit verschiedenen klinisch-pathologischen Merkmalen zeigte und auf das Überleben keinen Einfluss hatte.

Zusätzlich zeigte die multivariate Überlebensanalyse, dass PR-B ein signifikant unabhängiger prognostischer Faktor für das ursachenspezifische Überleben ist. Obwohl ER- α und PR-A einen signifikanten Zusammenhang zwischen verschiedenen histologischen Subtypen und den histologischen Graden zeigten, haben beide Rezeptoren unabhängig voneinander keinen Einfluss auf das Überleben bei Patientinnen mit Endometriumkarzinom.

Deswegen könnte eine immunohistologische Bestimmung von PR-B als ein leichter, einfacher und hocheffizienter Marker für die Identifikation von High-risk-Patientinnen sein. Diese Bestimmung könnte auch bei der Auswahl der Patientinnen helfen, die eine wirksamere adjuvante Therapie brauchen.

Schlüsselwörter: Endometrium; Karzinom; Immunohistochemie; Estrogenrezeptor alpha (ER- α); Estrogenrezeptor beta (ER- β); Progesteronrezeptor A (PR-A); Progesteronrezeptor B (PR-B); Gesamtüberleben.

2 SUMMARY

Cancer of the endometrium is the most common gynecological malignancy and accounts for 6% of all cancers in women. Human endometrium expresses estrogen- (ER) and progesterone receptors (PR), which are related to endocrine, autocrine and paracrine processes that respond to hormones estrogen and progesterone. The expression of the classic steroid receptors estrogen receptor alpha (ER- α) and progesterone receptor A (PR-A) have been correlated with stage, histological grade and survival in several studies. Therefore, aims of this study were, to determine the distribution of steroid receptor estrogen receptor alpha (ER- α), estrogen receptor beta (ER- β), progesterone receptor A (PR-A) and progesterone receptor B (PR-B) in malignant human endometrial tissue and the assessment of an association with various clinicopathological tumor features and clinical outcome. A series of 293 endometrial cancer samples were immunohistochemically analyzed with monoclonal antibodies against the four steroid receptors. The loss of receptor positivity for ER- α , PR-A and PR-B resulted in a poorer survival in endometrial cancer patients, while ER- β expression did not demonstrate any correlations with several analyzed clinicopathological characteristics and did not affect survival. Additionally, multivariate survival analysis demonstrated that PR-B was a significant

independent prognostic factor for cause-specific survival. In contrast, although ER- α and PR-A showed a significant association between the different endometrial histological subtypes and histological grading, both receptors were not independent factors with survival in endometrial patients. Therefore, the PR-B immunostaining might be used as an easy, simple and highly efficient marker to identify high-risk patients and may aid in the selection of patients for a more aggressive adjuvant therapy.

Keywords: endometrium; cancer; immunohistochemistry; estrogen receptor alpha (ER- α); estrogen receptor beta (ER- β); progesterone receptor A (PR-A); progesterone receptor B (PR-B); survival.

3 EINLEITUNG

3.1 Epidemiologie des Endometriumkarzinoms

Das Endometriumkarzinom ist eines der häufigsten gynäkologischen Malignome in den westlichen Ländern geworden. In den USA wurden 2005 voraussichtlich 40.880 neue Fälle mit Endometriumkarzinom diagnostiziert (American Cancer Society – ACS).¹

Diese Krankheit macht ca 6% aller bösartigen Erkrankungen bei Frauen aus.² Das Endometriumkarzinom nimmt in der Inzidenz unter allen Malignomerkrankungen der Frau mit jährlich 142.000 Neuerkrankungen weltweit die siebte Stelle ein.³ Mit ca. 10.000 Neuerkrankungen pro Jahr in Deutschland ist das Endometriumkarzinom das häufigste Genitalkarzinom und das vierthäufigste Malignom der Frau (nach den malignen Erkrankungen der Brust, des Dickdarms und der Leukämien und Lymphome).^{2, 4} Jährlich sterben 42.000 Frauen weltweit an dieser Erkrankung (ca. 1,9% aller krebsbedingten Todesfälle des weiblichen Geschlechts).³ Erfreulicherweise ist die Mortalität von Endometriumkarzinomen niedrig und eine Überlebensrate von 96% in den ersten fünf Jahren spricht für eine relativ gute Prognose.⁵

Die Krankheit tritt meistens bei postmenopausalen Frauen, aber auch bei Frauen in reproduktivem Alter auf.^{6, 7} Das mittlere Alter der erkrankten Frauen mit Endometriumkarzinom liegt bei 68 Jahren mit einem Gipfel zwischen 65-70 Jahren.²

3.2 Ätiologie und Pathogenese des Endometriumkarzinoms

Es ist seit mehreren Jahren bekannt, dass das Endometriumkarzinom häufig bei Frauen vorkommt, die unter einer Langzeiteinnahme von Estrogenen ohne Gestagenschutz stehen.^{6,7} Typische Risikofaktoren, die die Entwicklung von Endometriumkarzinom begünstigen sind Adipositas, anovulatorische Zyklen, frühe Menarche, späte Menopause, Nulliparität, Estrogensubstitutionstherapie in der Postmenopause, polyzystisches Ovary Syndrom (PCO) und Tumore, die Estrogen produzieren.⁷⁻¹⁰ Die meisten dieser Riskofaktoren für das Endometriumkarzinom wirken durch Estrogendominanz (alleinige Wirkung ohne Gestagenschutz). Diese führt zur Steigerung der mitotischen Aktivität der endometrialen Zellen. Damit steigt das Risiko für DNA-Replikationsfehler und somatische Mutationen. Somit entwickelt sich über die endometriale Hyperplasie ein Endometriumkarzinom (maligner Phenotyp).^{7, 11} Dass das Estradiol (E2) nicht nur mitogene, sondern auch eine mutagene Wirkung (als schwaches Karzinogen) hat, wurde vor ein paar Jahren beschrieben.¹² Die Endometriumkarzinome des sog. Typ I, die in obengenannten Fällen unter Einfluss von Estrogenwirkung entstehen, entwickeln sich via charakteristischer Reihenfolge der hyperplastischen Veränderungen des Endometriums (einfache- oder komplexe Hyperplasie, mit oder ohne Atypien).^{7-10, 13, 14} Aus histologischer Sicht findet man neben dem Endometriumkarzinom die Vorstufen (Hyperplasien), die meisten hoch- bis intermediär differenziert sind und die durch frühere Diagnostik eine gute Prognose haben.¹⁵ Außerdem exprimieren diese Karzinome Estrogen- und Progesteronrezeptoren und haben eine hohe responsive Rate auf Therapie mit Progesteron in vorgeschrittenen Stadien.^{7-10, 13, 14}

Es wurde auch ein zweiter Typ des Endometriumkarzinoms, der nicht unter Einfluss von Hyperestrogenismus steht, festgestellt.^{8,13,14} Dieser Typ II des Endometriumkarzinoms ist histologisch meistens niedrig differenziert, ein sog. High-

risk-Typ (serös-papillär oder klarzellig), exprimiert selten Estrogen- und Progesteronrezeptoren und hat eine schlechte Prognose.¹⁵ Die Unterschiede zwischen zwei pathogenetischen Formen des Endometriumkarzinoms sind in Tabelle 1 präsentiert.⁸

Anhand der ätiologischen, klinisch-pathologischen, immunhistologischen und molekular-genetischen Daten wurde das dualistische Modell der endometrialen Karzinogenese entwickelt. Dieses Modell basiert auf dem „klassischen“ Estrogen-gesteuerten Weg und dem „alternativen“, nicht hormonabhängigen Weg.⁷

Bezüglich der molekulargenetischen Eigenschaften exprimieren das Typ I Endometriumkarzinom und die endometriale Hyperplasie Mutationen im ras-Onkogen und im PTEN- Tumor-Suppressor-Gen, während beim Typ II und seinen Vorstufen (sog. endometriale intraepitheliale Karzinome) p53 Mutationen mit Akkummulation des p53 Proteins nachgewiesen sind.⁷

3.3 Präkanzerosen und histologische Klassifikation

3.3.1 Präkanzerosen des Endometriumkarzinoms

Die Mehrzahl der Endometriumkarzinome sind endometrioide Adenokarzinome¹⁶, die überwiegend estrogenabhängig sind (Typ I).^{8, 17}

Prototyp des nicht-hormonabhängigen Karzinoms (Typ II) ist das seröse Karzinom¹⁵.

Die Präkanzerose der Typ-I-Karzinome ist die atypische Hyperplasie. Nach der WHO-Klassifikation von 1994¹⁸ wird die Hyperplasie in 4 Kategorien unterteilt:

a) einfache Hyperplasie; b) komplexe Hyperplasie; c) einfache atypische Hyperplasie und d) komplexe atypische Hyperplasie, mit einem Karzinomrisiko von <1%, 3%, 8%, und 29% (Tabelle 2). Die WHO-Klassifikation benutzte dabei zwei Kriterien und basierte auf einer grundlegenden Studie.^{7, 19}

Die neue EIN (endometriale intraepitheliale Neoplasie) Klassifikation, von der „International Endometrial Collaborative Group“^{20, 21} vorgeschlagen, bezieht sich auf integriert- morphologische, genetisch-molekulare, zell-biologische und prognostisch-morphometrische Studien²² (Tabelle 3). Es werden zwei Kategorien von Krankheiten unterschieden:

1. Die benigne Hyperplasie (EH): eine hormonabhängige diffuse, polyklonale Läsion.

2. Endometriale intraepitheliale Neoplasie (EIN): am Anfang eine lokalisierte monoklonale, neoplastische Proliferation, die in fortgeschrittenen Stadien eine diffuse Läsion werden kann.

Morphologische Kriterien zur Diagnose der EIN sind die dicht gelegenen Drüsen mit wenig dazwischenliegendem Stromagewebe, zytologische Atypien und die lineare Größe der Läsion $>1\text{mm}$.²³ (Tabelle 4)

Das EIN-Klassifikationssystem sagt besser als die WHO-Klassifikation die Krankheitsprogression voraus und identifiziert viele Fälle mit benigner Krankheit besser, die sonst mit der WHO-Klassifikation als high-risk eingestuft würden.²⁴

Als Vorstufe der serösen Karzinome gilt das endometriale intraepitheliale Karzinom (EIC), eine Läsion als Ergebnis der malignen Transformation des oberflächlichen Endometriumepithels.⁵ Diese Läsion wurde auch als „Carcinoma in situ“ bezeichnet.²⁵

Molekulargenetische Untersuchungen haben gezeigt, dass EIC eine Vorstufe des serösen Karzinoms ist. In beiden Läsionen wurden eine Überexpression von p53 Proteinen, der Verlust der Heterozygotie auf dem Chromosom 17p und Mutationen im p53 Gen nachgewiesen.^{26, 27}

3.3.2 Histologische Klassifikation

Das Endometriumkarzinom wird nach WHO/ ISGYP (International Society of Gynecological Pathologist) Richtlinien klassifiziert (Tabelle 5).¹⁸

Der häufigste Typ des Endometriumkarzinoms ist das endometroide Karzinom mit ca. 60-80%.²⁸ Hier handelt es sich histologisch um drüsige Formationen, die ähnlich dem normalen Endometrium in der Proliferationsphase sind. Zwischen den Drüsen ist das Stromagewebe verschwunden. Diese Tumoren enthalten „per definitionem“ nicht mehr als 10% Anteile mit Plattenepithel, seröse, muzinöse oder klarzellige Zelldifferenzierung.¹⁹ Falls diese Herde mehr als 10% des Tumors ausmachen, dann handelt es sich um sog. Mischkarzinome.

Das muzinöse Karzinom ist ein seltener histologischer Typ mit nur 1-9 % der gesamten Fälle der Endometriumkarzinome.²⁹ Das histologische Bild zeigt drüsige Formationen mit schleimbildenden Zellen (PAS positiv). Auch die anderen Typen des Endometriumkarzinoms wie seröse, klarzellige und gemischte Karzinome sind selten (unter 10%). Bei den serösen Karzinomen findet man mikroskopisch oft papilläre Formationen mit Atypien und Mitosen sowie abgelöste Zellhaufen mit Kernatypien. Herdförmig sind Nekrosen und Psammomkörperchen nachweisbar.

Das mikroskopische Erscheinungsbild bei Klarzellkarzinomen ist unterschiedlich: von papillär-tubulären bis soliden Strukturen. Auch gemischte Formationen mit klaren Zellen (Glykogengehalt) treten auf.

3.4 Diagnostik des Endometriumkarzinoms

Das Endometriumkarzinom wird in 72% der Fälle dank vaginaler Blutung in frühem Stadium (als lokalisierte Krankheit) diagnostiziert.⁵

Bei Frauen mit postmenopausaler Blutung (PMB) und bei prämenopausalen Patientinnen mit Blutungsanomalien gilt zur Diagnosesicherung als Goldstandard die fraktionierte Abrasio.^{2, 30}

Zuvor sollte man eine gynäkologische Untersuchung zur Abklärung der Lokalisation der Blutung, Abschätzung der Uterusgröße, Mobilität und Umgebung durchführen.

Als nächster diagnostischer Schritt hat sich die vaginale Sonographie (einfache und kostengünstige Methode) durchgesetzt.³¹ Mit dieser Methode kann man Uterusgröße, Endometriumdicke, Adnexe beidseits, Harnblase und Douglas-Raum beurteilen. Die Endometriumdicke ist sehr wichtig, da bei Patientinnen mit einer Dicke $<$ oder $=$ 4 mm (trotz PMB) meistens im histologischen Präparat der Abrasio kein Karzinom diagnostiziert wird.³²

Wie oben erwähnt, wird zur Abklärung einer PMB eine diagnostische Hysteroskopie und in der gleichen Sitzung eine fraktionierte Abrasio (um einen Zervixbefall auszuschliessen) durchgeführt.³³

Bei Patientinnen mit PMB wird in 3,2-9,5 % der Fälle ein Endometriumkarzinom diagnostiziert.³³ Eine Endometriumbiopsie als Screening-Methode hat bei asymptomatischen Frauen keinen Sinn, da in solchen Situationen nur in 0,13% der Fälle ein Endometriumkarzinom diagnostiziert wird.³⁴

3.5 Staging und Therapie

3.5.1 Staging

Zum Staging des Endometriumkarzinoms gilt seit 1998 nach der FIGO-Klassifikation ein operatives Staging als verbindlich.³⁵

FIGO und TNM Klassifikation des Endometriumkarzinoms sind in Tabelle 6 dargestellt. Nach histologischer Diagnosesicherung wird eine prätherapeutische Stadienzuordnung (prätherapeutisches Staging) zur Bestimmung der Operabilität durchgeführt. Dazu benötigt man: Röntgenaufnahme des Thorax, Abdominalsonographie und eventuell Computertomographie sowie Cysto- und Rektoskopie.³⁵

3.5.2 Operative Therapie

Die Methode der Wahl zur Behandlung der Endometriumkarzinome der Stadien I-III ist die operative Therapie.³⁶ Das operative Staging (und Therapie) besteht aus Hysterektomie mit Adnex-exstirpation bds. sowie pelvine- und paraaortale Lymphnodektomie (LNE). Die LNE ist fakultativ in den Stadien pT1a bzw. pT1b, G1 oder G2 und sollte in Form einer systematischen LNE (nicht als Sampling) durchgeführt werden. Es sollten mindestens 15 pelvine und 10 paraaortale Lymphknoten entfernt werden.³⁵ Eine LNE ermöglicht die genauere Prognoseabschätzung, eine stadienangepasste adjuvante Therapie und Prognoseverbesserung der Patientin.^{37, 38} Bei histologisch gesicherten serösen und

klarzelligen Karzinomen sollte zusätzlich eine Omentektomie und multiple Peritoneumbiopsien (inklusive Zwerchfellkuppeln) erfolgen.³⁰

3.5.3 Radiotherapie

Primäre Strahlentherapie wird nur bei inoperablen Patientinnen eingesetzt. Diese besteht aus einer kombinierten Tele- und Brachytherapie.³³

Die adjuvante Radiotherapie sollte innerhalb von 6 Wochen nach der Operation beginnen. Im Allgemeinen wird als adjuvante postoperative Therapie eine Kombination aus vaginaler Kontaktbestrahlung (Brachytherapie) und perkutaner Strahlentherapie (Teletherapie) gewählt. Patientinnen mit Endometriumkarzinomen der Stadien pT1a, G1 oder G2 und Stadium pT1B, G1 haben ein niedriges Risiko für lokale Rezidive. Die Operation allein ist als Therapie ausreichend (diese Patientinnen brauchen keine adjuvante Radiotherapie).³⁹⁻⁴²

Eine Brachytherapie ist bei Patientinnen mit niedrigem Risiko (Stadium pT1b, G2), bei Patientinnen mit intermediärem Risiko (Stadium pT1c, pT2a) und hohem Risiko (Stadium pT2b, pT3 und pT4) indiziert.^{35, 39} Eine Verminderung der lokalen Rezidive und eine Verlängerung des rezidivfreien Intervalls konnte nachgewiesen werden.⁴¹ Eine zusätzliche Teletherapie wird ab Stadium pT1c empfohlen.³⁵ In mehreren prospektiv-randomisierten Studien (z.B. PORTEC, GOG) konnte gezeigt werden, dass eine adjuvante Stadien- und Risikoadaptierte Strahlentherapie nach einer entsprechenden Operation in den Stadien pT1 und pT2 signifikant das lokoregionäre Rezidivrisiko senkt.^{35, 39, 43, 44}

3.5.4 Chemotherapie und Hormontherapie

Die Patientinnen im Frühstadium des Endometriumkarzinoms (I und II) profitieren von einer Chemo- oder Hormontherapie nicht.^{45, 46}

Bei den fortgeschrittenen Endometriumkarzinomen der Stadien III und IV zeigte die Chemotherapie (Doxorubicin, Cisplatin) ein signifikant höheres rezidivfreies Überleben und eine Überlebensverlängerung im Vergleich mit Radiatio.^{47, 48}

Nach einer Analyse der 6 Studien über den Nutzen der Chemotherapie bei fortgeschrittenen, metastasierten und rezidivierenden Endometriumkarzinomen haben sich Paclitaxel oder platinhaltige Regime als optimale Medikation in solchen Situationen bewiesen.^{49, 50}

Die orale Hormontherapie mit 200 mg Medroxyprogesteronacetat (MPA) ist eine effektive initiale Therapie bei fortgeschrittenem (Stadien III und IV) und rezidivierendem Endometriumkarzinom. Die Ansprechraten für gut differenzierte Tumore (G1) und Progesteronrezeptor-positive Tumore liegen bei 37%.⁵¹

3.6 Prognostische Faktoren des Endometriumkarzinoms

Die verschiedenen histologischen Typen von Endometriumkarzinomen haben auch eine unterschiedliche Prognose.^{52, 53} Seröse und klarzellige Karzinome haben schlechtere Prognosen als endometrioide und muzinöse Karzinome.⁵²⁻⁵⁸ Dagegen hat der muzinöse Typ eine bessere Prognose als das endometroide Karzinom.²⁹ Die Tumordifferenzierung (Grading) spielt für die Prognose eine wichtige Rolle. So hat

zum Beispiel ein niedrig differenziertes (G3) Karzinom eine schlechtere Prognose als ein hoch- und mäßig differenziertes (G1 und G2) Karzinom.^{57, 59-61}

Außer histologischem Typ des Tumors und Differenzierungsgrad sind als wichtige Prognosefaktoren das Tumorstadium, das Alter der Patientin, Myometriuminfiltration, Gefäßeinbruch und Lymphknotenbefall anzusehen.⁶⁰⁻⁶⁷

Auch die sogenannten biologischen Faktoren wie Steroidhormonrezeptoren, DNA-Gehalt, Ploidie, p53-Überexpression und Her2/neu scheinen teilweise prognostisch bedeutsam zu sein.^{30, 68}

Die diagnostischen Möglichkeiten, die wir heute zur Verfügung haben, sind nicht ausreichend, um Patientinnen mit einer schlechten Prognose zu identifizieren. Die immunohistochemische Methode mit verschiedenen spezifischen Tumormarkern könnte eine interessante und zusätzliche Methode sein, um high risk-Patientinnen zu identifizieren.⁶⁹

3.6.1 Estrogen- (ER) und Progesteronrezeptoren (PR)

Estrogen- (ER) und Progesteronrezeptoren (PR) sind Liganden-abhängige transkriptionale Faktoren und gehören zur Superfamilie der nuklearen Steroidrezeptoren. Man hat mehrere Jahren lang geglaubt, dass es nur singuläre ER- und PR-Rezeptoren gibt. Mit der Entdeckung der neuen ER- und PR-Rezeptoren (ER- β und PR-B) konnten neue Erkenntnisse in dem Wirkungsmechanismus der Steroidrezeptoren gewonnen werden.^{70 71-75}

Die Expression von ER und PR sowie deren Verteilungsmuster können eine wichtige Rolle in der Funktion von normalem Endometrium spielen. Die Pathogenese, Expression und der Zusammenhang von zwei verschiedenen ER und

PR könnten eine essenzielle klinische Auswirkung haben. Obwohl ER und PR in Paraffinblöcken des normalen und pathologischen Endometriums bestimmt wurden, gab es Schwierigkeiten, ER- β und PR-B wegen des Fehlens von geeigneten monoklonalen Antikörpern zu visualisieren.

Die Expression der klassischen Steroidrezeptoren ER- α und PR-A korreliert in verschiedenen Studien mit dem Stadium, dem histologischen Grad und dem Überleben. Weiter glaubte man, dass der ER- und PR-Status ein unabhängiger prognostischer Faktor ist.⁷⁶⁻⁸²

Deshalb hat das „National Cancer Institute“ der USA empfohlen, diese Parameter bei der Evaluierung von Patientinnen mit Endometriumkrebs in Stadium I und II aufzunehmen.

PR scheint im Gegensatz zu ER eine prädiktive Rolle im krankheitsfreien Überleben zu spielen.^{83,84} Einige Autoren hingegen behaupten, dass die Expression von Steroidrezeptoren kein unabhängiger prognostischer Faktor für das Endometriumkarzinom ist.

Die Nützlichkeit der Bestimmung des Rezeptorstatus der Patientinnen mit Endometriumkarzinom wird noch kontrovers diskutiert. Es gibt noch zu wenige Daten über die prognostische Signifikanz der kürzlich entdeckten ER- β und PR-B in Endometriumkarzinomen.

4 FRAGESTELLUNG

Die Ziele dieser Arbeit waren aus diesem Grund:

1. Die Beurteilung der Expressionsmuster der Estrogenrezeptoren (ER- α und ER- β) und Progesteronrezeptoren (PR-A und PR-B) bei Patientinnen mit Endometriumkarzinom.
2. Die Charakterisierung der prognostischen Signifikanz der oben genannten Steroidrezeptoren.

5 MATERIAL UND METHODEN

5.1 Gewebeproben

Für diese Arbeit wurden 293 Präparate von hysterektomierten Patientinnen mit Endometriumkarzinom verwendet, die in der I. Abteilung für Gynäkologie und Geburtshilfe der Ludwig Maximilians-Universität in München zwischen 1990-2001 operiert wurden. Die Tumorgewebsproben wurden aus dem pathologischen Archiv des Klinikums gewonnen. Alle mit Hämatoxylin und Eosin gefärbten Präparate wurden von einem Gynäkopathologen mikroskopiert und überprüft. Es wurden die Diagnose, der histologische Grad, der histologische Typ, das FIGO Stadium und der Nachweis einer Lymphangiome und / oder Hämangiome verifiziert.⁸⁵

Die Frauen, bei denen ein Sarkom des Uterus diagnostiziert wurde, sind von dieser Studie ausgeschlossen worden. Das pathologische Stadium und der histologische Subtyp wurden für jeden Fall anhand der 1988 festgelegten Kriterien der Internationalen Föderation der Gynäkologie (FIGO) bestimmt. Die histologische Klassifikation wurde anhand des WHO-Systems (gut differenziert-G1, n=160; mässig differenziert-G2, n=80 und schlecht differenziert-G3, n=53) durchgeführt.

Bei Patientinnen mit Endometriumkarzinom wurde die totale abdominale Hysterektomie mit beiderseitiger Entfernung der Adnexen (Tube und Ovarien)

durchgeführt und eventuell zusätzlich eine pelvine- und paraaortale Lymphonodektomie (in der Regel bei Patientinnen mit tieferer Infiltration des Myometriums und/oder niedrig differenzierter oder aggressiv histologischer Form). Übergewicht, hohes Alter und Multimorbidität sind die Faktoren, die gegen ein komplettes operatives Staging sprachen.

Die Patientendaten wurden aus den drei folgenden Quellen gewonnen: dem Tumorregister des Krankenhauses, der automatischen Datenbasis und vom Krankenblatt. Das Münchener Tumorregister sammelt systematisch die elementaren Daten (demografische Eingaben, Diagnose, zusätzliche Krankheiten, z.B. Übergewicht, Diabetes mellitus, hoher Blutdruck) und Behandlungsinformationen von allen Krebspatientinnen die an der I. Universitätsfrauenklinik diagnostiziert und therapiert werden.

Automatische Patientenakten für jede Patientin wurden überprüft, um die Diagnose zu verifizieren und um ein Krankheitsrezidiv durch radiografische oder pathologische Methoden festzustellen oder auszuschließen. Alle Fälle mit Rezidiv wurden durch radiografische Angaben oder durch Biopsie als solche bestätigt. Nur die Daten von Patientinnen, die am Endometriumkarzinom starben, sind als unzensiert eingestuft. Die Daten von allen Patientinnen, die während der follow-up Zeit noch lebten oder die nicht an der Krankheit oder an einer ähnlichen Krankheit gestorben waren, sind als zensiert eingestuft. Zusätzlich sind auch die Fälle als zensiert bezeichnet worden, bei denen keine genaue Todesursache bekannt war, bei denen aber innerhalb von 2 Jahren nach der Diagnose die Patientinnen an einer Metastase verstorben waren.

5.2 Immunohistochemie

Die Immunhistochemie hat zu einer Zunahme der diagnostischen Präzision in der Pathologie geführt. Die Beurteilung immunhistologischer Färbungen bedarf jedoch der morphologischen Erfahrung, sowie profunder Kenntnisse der jeweiligen Histo- und Zytopathologie, der Reaktionsmuster, der Beachtung von internen oder externen Positivkontrollen und der Berücksichtigung von unspezifischen Anfärbungen. Grundprinzip immunhistochemischer Färbemethoden ist, mit Hilfe von Antikörpern korrespondierende Antigene im Gewebe zu markieren.

Immunologische Reaktionen zwischen Antigenen und spezifischen monoklonalen oder polyklonalen Antikörpern stellen den ersten Schritt jeder immunhistologischen Färbung dar. Der zweite Schritt besteht in der Detektion der entstandenen Antigen-Antikörper-Komplexe durch eine Farbreaktion. Die Antigenbindung kann durch Enzymkopplung sichtbar gemacht werden. Bei den sog. „indirekten“ Methoden, die in der diagnostischen Immunhistochemie heute überwiegend angewendet werden, werden zusätzliche immunologische oder chemische Reaktionen zwischengeschaltet. Die gebräuchlichsten Detektionssysteme sind die Peroxidase-anti-Peroxidase-Technik (PAP), die alkalische Phosphatase-antialkalische-Phosphatase-Technik (APAAP) und die Avidin-Biotin-Komplex-Technik (ABC)⁸⁶. Wir haben die standardisierte Avidin-Biotin-Komplex-Technik (ABC) mit dem Maus-IgG-Vectastain Elite ABC Kit (Vector Laboratories, Burlingame, California, USA) benutzt.⁸⁷⁻⁸⁹ Im Gegensatz zur PAP, welche auf einer Antigen-Antikörper-Reaktion basiert, wird bei der Avidin-Biotin-Methode die starke Affinität von Avidin (Eiweißglykoprotein) Biotin (Vitamin H) physikalisch zu binden, genutzt. Avidin besitzt 4 Bindungsstellen für Biotin. Jedoch binden aufgrund der molekularen Konfiguration in der Regel weniger als 4 Biotinmoleküle. Dieser Komplex ist in seiner Stabilität,

aufgrund seiner höheren Affinität von Avidin zu Biotin, der PAP-Technik überlegen. Er verfügt über eine hohe Sensitivität, da die Möglichkeit einer Komplexbildung mehrerer Biotin-Moleküle mit Avidin besteht, und somit zusätzlich eine kostensparende höhere Verdünnung der Primärantikörper möglich ist⁹⁰. Wie bei der PAP Methode werden 3 Reagenzien gebraucht. Das erste ist ein Primärantikörper (monoklonale Maus-Primärantikörper), der sich spezifisch gegen das zu bestimmende Antigen richtet (das gesuchte Antigen im Gewebsschnitt wird markiert). Zur Verstärkung und Sichtbarmachung der Primärantikörper-Bindung erfolgt zunächst die Zugabe eines Biotin-konjugierten Sekundärantikörpers (zweite Reagenz). Das dritte Reagenz ist ein Peroxidase-konjugierter Avidin-Biotin-Komplex. Die freien Stellen des Avidinmoleküls ermöglichen die Bindung an das Biotin des Sekundärantikörpers. Am Ende werden die Antigene durch Einsatz einer Chromogen-Substratlösung sichtbar gemacht⁹¹ (Abb 5).

Da eine Reihe von Antigenen durch die Formalinfixation verändert sind, ist es häufig notwendig, diese durch Vorbehandlung der Schnitte, z.B. durch Mikrowellenbehandlung oder proteolytische Enzyme, zu demaskieren. Vor dem Färbevorgang ist die vollständige Entfernung des Einbettungsmediums (Entparaffinierung) zur Vermeidung von Hintergrundfärbung und Überdeckung positiv gefärbter Zellen außerordentlich wichtig⁹². Von Formaldehyd bzw. auf Formaldehyd basierenden Lösungen ist bekannt, dass in Antigenen sterische Veränderungen, sogenannte Molekülvernetzungen, induziert werden, beziehungsweise insbesondere Zelloberflächen-antigene denaturiert werden können. Durch eine Vorbehandlung mit proteolytischen Enzymen kann versucht werden überschüssige Aldehydvernetzungen aufzuspalten und die verdeckten Antigene freizulegen⁹².

Bei den Paraffin-Schnitten, die wir benutzt haben, wurden folgende Schritte durchgeführt: die Entparaffinierung erfolgte durch zweimal zehnteiliges (2x 10 min)

Inkubieren im Xylol und danach ebenso zehnmütiges Inkubieren in reinem Ethanol. Um die Aktivität endogener Peroxidase zu blocken, wurden die Schnitte 20 Minuten im Methanol (194 ml) mit 6 ml 30%igem H₂O₂ (Merck, Darmstadt) bei Raumtemperatur inkubiert und dann 5 - 10 Minuten mit fließendem Leitungswasser gespült. Nach Rehydration der Schnitte in 70%igem Ethanol, 50%igem Ethanol und destilliertem Wasser erfolgte die Antigen-Demaskierung in der Mikrowelle. Dazu wurden die Schnitte in 10 mM Natriumzitat-Waschpuffer (pH 6,0) inkubiert und die Präparate für dreimal fünf Minuten in der Mikrowelle bei 600 Watt gekocht. Nach Abkühlung wurden die Präparate zweimal in phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) gewaschen. Eine unspezifische Bindung des primären Antikörpers wurde durch Inkubation der Schnitte mit verdünntem normalen Serum (10ml PBS + 150µl horse serum; Vectastain Elite ABC Kit) für 20 Minuten geblockt. Die Schnitte wurden dann bei Zimmertemperatur für 60 Minuten mit den primären Antikörpern inkubiert. Die Maus-monoklonalen Antikörper, die wir für diese Studie benutzt haben, sind in Tabelle 7 dargestellt.

ER- α und PR-A wurden in einem hintergrundsreduzierendem Medium (Dako, Glostrup, Denmark) verdünnt, während ER- β and PR-B mit PBS verdünnt wurden. Nach dem Waschen mit PBS wurden die Präparate mit dem biotinylierten Sekundärantikörper für 30 Minuten bei Zimmertemperatur inkubiert (10ml PBS + 150µl horse Serum und 50µl Anti-mouse-Antikörper; Vectastain Elite ABC Kit). Danach wurden die Schnitte mit dem Avidin-Biotin Peroxidase-Komplex (10ml PBS + 200µl Lösung A + 200µl Lösung B; Vectastain Elite ABC Kit) für 30 Minuten inkubiert und erneute 2x10 Minuten in PBS gewaschen. Zur Visualisierung der Rezeptoren wurde die Chromogen- Substratlösung Diaminobenzidine Tetrachloride (DAB Dako, Glostrup, Denmark) für 8-10 Minuten zugefügt. Dies ergab ein braunes Endprodukt an der Stelle des gesuchten Rezeptors.

Die Präparate wurden in Mayers Hämatoxylin für 2 Minuten gegengefärbt und danach in der aufsteigenden Alkoholreihe (50-98%) dehydriert. Aus dem als Intermedium fungierendem Xylol wurden die Schnitte mit Eindeckmedium (Consul Mount™; Shandon, Pittsburgh, USA) und einem Deckglas eingedeckt. Die negativen Kontrollen wurden durch Ersetzen der primären Antikörper mit normalem Mausserum durchgeführt. Als positive Kontrolle für ER- α , PR-A and PR-B haben wir Gewebsschnitte vom humanen invasiven Mammakarzinom benutzt. ER- β Antikörper sind positiv am humanen Colongewebe getestet worden.

5.3 Immunhistochemische Auswertung

Die Intensität und das Verteilungsmuster der immunhistologischen Färbung der spezifischen Steroidrezeptoren ist durch zwei unabhängige Untersucher ausgewertet worden. Dafür wurde ein semiquantitativer Score (IRS) benutzt, wie in früheren Arbeiten beschrieben.⁹³ Dieser IRS wird auch für die Auswertung von Expressionsmuster der Steroidrezeptoren,^{87-89, 94} Ca-125,⁹⁵ Cathepsin D⁹⁶ und Inhibin/Activin Subunits^{97, 98} in Endometriumgewebe verwendet.

Der IRS Score wurde durch Multiplikation der optischen Färbungsintensität (graduiert als: 0= kein, 1 = schwach, 2 = mäßig, 3 = stark gefärbt) und dem Prozentsatz positiv gefärbter Zellen (0 = kein Färbung, 1 \leq 10% der Zellen, 2 = 11-50% der Zellen, 3 = 51-80% der Zellen und 4 \geq 81% der Zellen) berechnet.

Die Schnitte wurden mit Hilfe des Photomikroskopes Leica (Tokio, Japan) untersucht. Bilder wurden durch eine digitale Kamera angefertigt und gespeichert.

Der IRS Score für ER- α , ER- β , PR-A und PR-B Expression wurde mit der Hilfe der „Kruskal-Wallis one-way analyze of variance by ranks“ verglichen. Die Korrelation der Expression der Steroidrezeptoren wurde durch den Spearman-rank-Korrelationstest verglichen. Ein signifikanter Unterschied war bei Wert $p \leq 0.05$ (at two-sided test) angenommen worden.

5.4 Statistische Analyse

Die Datenerfassung und Auswertung erfolgte mit Hilfe des Computerprogramms (SPSS Version 14.0; SPSS Inc., Chicago, IL).

Für den Zweck der statistischen Überlebensanalyse wurde die Expression der Steroidrezeptoren im Tumormuster als erhöht angesehen, wenn >10% der Tumorzellen positiv waren (wie vorher angedeutet).^{83, 93, 99} Das korrespondiert per definitionem mit einem immunohistochemischen Färbungsscore (IRS) höher als zwei.

Für die Auswertung der Färbeintensität der ER- β wurde der Mittelwert für alle Tumormuster benutzt (der Mittelwert für ER- β = 0). Erhöhte/positive versus nicht erhöhte/negative Immunfärbung in Tumormustern wurde durch den χ^2 test und dem exakten Fischertest (dort wo er anwendbar war) verglichen.

Die analysierten Ergebnisse waren progressionsfreies Überleben, ursache-spezifisches Überleben und Gesamtüberleben. Die univariate Analyse wurde mit der Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse aufgeführt, um das Überleben einzuschätzen,¹⁰⁰ und mit der Hilfe des log-rank Test verglichen.

Die prognostischen Modelle nutzen die multivariate Cox-Regressionsanalyse für die multivariate Analyse des Überlebens. Die Variablen wurden in einer vorwärts gerichteten Art eingegeben.¹⁰¹ Für die Cox'schen proportionalen Risiken wurden die Daten für Alter, Stadium, Grad, Lymphknotenstatus, Lymphangiosis, Hämangiosis,

ungünstige Histologie (endometrioider versus serös-papilärer/klarzelliger Typ), Expression von Steroidrezeptoren ER und PR, Hypertension, Adipositas, Diabetes, anti-hormonelle Therapie und Strahlentherapie angepasst.

Lymphknotenbefall wurde als eindeutige Variable eingeführt, definiert als kein Lymphknotenbefall, positive Lymphknoten und unbekannter Status. Signifikanz der Unterschiede wurde bei $p \leq 0.05$ der zweiseitigen Tests (the two-sided test) angenommen (SPSS Version 14.0; SPSS Inc., Chicago, IL wurde benutzt).

6 ERGEBNISE

6.1 Klinisch-pathologische Charakterisierung

Die klinisch-pathologischen Kennzeichen des Endometriumkarzinoms sind zusammengefasst in Tabelle 10. Das mittlere Alter der Patientinnen zum Zeitpunkt der Diagnose war 64,8 Jahre (das Intervall 35.5 - 87.9 Jahre). 219 Patientinnen (74,7 %) und 21 Patientinnen (7,2 %) wurden im FIGO Stadium I beziehungsweise II diagnostiziert, während 45 Patientinnen (15.4 %) in Stadium FIGO III waren. Bei 8 Patienten (2.7%) wurden in der Zeit der Diagnose bereits Metastasen (FIGO Stadium IV) diagnostiziert.

Von 293 analysierten Fällen mit Endometriumkarzinom hatten 214 Patientinnen (73%) einen endometrioiden Typ, 12 Patientinnen (4,1%) einen mucinösen Typ, während bei 23 Patientinnen (7,8%) ein seröses, bei 34 Patientinnen

(11,6 %) ein gemischtes und jeweils bei 5 Patientinnen (1,7 %) ein klarzelliges oder undifferenziertes Karzinom diagnostiziert wurde (Tabelle 9).

Die Lymphonodektomie oder Sampling wurde bei Patientinnen mit Tumordinfiltration in tiefere Myometriumschichten und/oder mit High-grade oder mit aggressivem Subtyp des Tumors durchgeführt. Pelvine und/oder paraaortale Lymphonodektomie wurden bei 209 Patientinnen (71,3 %) durchgeführt. Bei 23 Patientinnen (7,8 %) wurden Lymphknotenmetastasen festgestellt.

Bei 84 Patientinnen (28,4 %) wurde kein volles chirurgisches Staging (Operation) durchgeführt. Gründe dafür waren: frühes FIGO Stadium (FIGO Ia), Übergewicht, das Alter und die Polymorbidität der Patientin. Bei 99 Patientinnen (33,8 %) wurde Übergewicht, bei 115 Patientinnen (39,4 %) hoher Blutdruck und bei 33 Patientinnen (11,3 %) Diabetes festgestellt.

Von 293 analysierten Fällen haben 116 Patientinnen (39,6 %) eine Radiotherapie bekommen, während 11 Patientinnen (3,8 %) mit antihormonaler Therapie behandelt wurden. In der Follow-up-Analyse wurde bei 45 Patienten ein Tumorrezidiv festgestellt. Insgesamt sind 41 Patienten an Endometriumkarzinom gestorben.

6.2 Die Proben des Endometriumkarzinoms

6.2.1 Estrogen Rezeptoren

Die Ergebnisse der immunohistochemischen Analyse der Fälle mit Endometriumkarzinom sind zusammenfassend in Tabelle 9 vorgestellt. Positive immunohistochemische Färbung für ER- α ist in 129 (44,0%) und für ER- β in 40 (13,7%) aller 293 Fälle von Endometriumkarzinom festgestellt worden (Abbildungen 1a-d).

In Fällen der Expression des ER- β wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Typen des Endometriumkarzinoms nachgewiesen, während die Expression des ER- α einen höheren signifikanten Unterschied zeigte ($p=0.009$).

Die Expression des ER- α zeigt in Fällen mit Endometriumkarzinom einen signifikanten Zusammenhang mit Grading ($p=0.032$) und Histologie ($p=0.033$), aber keine statistische Signifikanz mit dem Tumorstadium ($p=0.066$) (Tabelle 10). ER- β zeigte keinen Zusammenhang mit den klinisch-pathologischen Charakteristiken der Patientinnen. Außerdem wurde kein Zusammenhang zwischen dem ER- β und anderen Steroidrezeptoren gefunden. Das ER- α dagegen zeigte einen hohen Zusammenhang mit den Progesteronrezeptoren (Spearman-Test: jeweils $p<0.001$) (Tabelle 11).

6.2.2 Progesteronrezeptoren

Es wurde eine positive immunohistochemische Färbungsreaktion für den PR-A und den PR-B bei 148 (50.5%) beziehungsweise 189 (64.5%) der Fälle mit Endometriumkarzinom festgestellt (Abbildungen 1e-h). Ein signifikanter Unterschied des IRS in beiden Progesteronrezeptoren ist bei verschiedenen Subtypen des Endometriumkarzinoms festgestellt worden ($p=0.006$ und $p<0.001$ für PR-A beziehungsweise PR-B).

Während der Analyse der positiven und negativen Expression konnte man auch einen signifikanten Unterschied zwischen den verschiedenen histologischen Subtypen feststellen ($p=0.038$ und $p=0.018$). Außerdem konnte man einen Zusammenhang zwischen dem PR-A und dem PR-B mit Grading (χ^2 : $p=0.001$ and

p=0.004) und Histologie (p=0.008 and p=0.005) (Tabelle 10) demonstrieren. PR-A zeigte einen Zusammenhang mit dem Stadium (p=0.008) und der Hämangiose (p=0.035). Es wurde auch ein signifikanter Zusammenhang zwischen beiden Progesteronrezeptoren festgestellt (Spearman-Test: p<0.001). Außerdem zeigten beide Subkomponenten einen positiven Zusammenhang mit der Expression des ER- α (Spearman-Test: jeweils p<0.001) (Tabelle 5).

6.2 Überlebensanalyse

Die durchschnittliche Überlebenswahrscheinlichkeit für die unzensierte Subgruppe war 26,2 Monate (range, 3,2–135,5), während das durchschnittliche Follow-up der zensierten Patienten 89,6 Monate war (range 0,3–176,8 Monate).

Die univariate Überlebensanalyse hat aufgedeckt, daß die Patientinnen mit der Expression des ER- α , des PR-A und des PR-B ein signifikant besseres progressionsfreies Überleben im Vergleich zu Patientinnen ohne Expression haben (Abbildung 2) (p=0.043, p= 0.004 and p=0.011 für ER- α , PR-A und PR-B log rank test). Außerdem zeigten die Patientinnen mit der ER- α , der PR-A und der PR-B Expression ein hoch signifikant schlechteres ursachenspezifisches Überleben (Abbildung 3) (p=0.023, p= 0.004 und p=0.002 für ER- α , PR-A und PR-B, log rank Test).

Trotzdem zeigt nur das Fehlen der Expression des PR-A und des PR-B ein signifikant schlechteres Gesamtüberleben (Abbildung 4) (p = 0.014, p= 0.013 für PR-A und PR-B, log rank test)

Die Expression des ER- β dagegen zeigt keinen signifikanten Unterschied gegenüber dem progressionsfreien Überleben ($P=0.907$), dem ursachenspezifischen Überleben ($p=0.369$) und dem gesamten Überleben ($p=0.815$).

Andere klinische Parameter, einschließlich dem fortgeschrittenen chirurgischen Stadium (Stadium I/II versus Stadium III/IV) und dem fortgeschrittenen histologischen Grad (G3 versus G1 oder G2), welche bekannte prognostische Faktoren beim Endometriumkarzinom sind, beeinflussten statistisch signifikant die Überlebensrate unserer Patientinnen, und zeigten somit die Gültigkeit der Patientengruppe, die in diese Studie einbezogen wurden (P in log rank war <0.001 für beide analysierten Parameter jeweils für progressionsfreies, ursachenspezifisches und gesamtes Überleben).

Prognostische Faktoren wurden auch mit Hilfe des multivariaten Proportional-hazard-Modells analysiert. Für die schrittweisen logistischen regressiven Modelle haben wir folgende Variablen einbezogen: das Alter, das FIGO Stadium, den Grad des Tumors, den histologischen Typ des Tumors, den Lymphknotenstatus, die Lymphangiome, die Hämangiome, das Übergewicht, den hohen Blutdruck, Diabetes, die Radiotherapie, die anti-hormonelle Therapie, den ER- α , den ER- β , den PR-A und den PR-B Status.

Weiteres schrittweises Eliminieren anhand der Cox-Regressions-Ergebnisse führt zu einem Modell, welches vier unabhängige Begriffe beinhaltet, die für das progressionsfreie Überleben prädiktiv waren: WHO-Grading ($p<0.001$), das FIGO-Stadium ($p<0.001$), der Lymphknotenbefall ($p=0.010$) und die Adipositas ($p=0.043$) (Tabelle 12).

Die unabhängigen prognostischen Faktoren für das ursachenspezifische Überleben waren das Alter ($p<0.001$), das FIGO-Stadium ($p<0.001$), der Grad ($p=0.022$), Adipositas ($p=0.039$) und die PR-B Expression ($p=0.019$). Das

Gesamtüberleben wurde durch das Alter ($p < 0.001$), das FIGO-Stadium ($p < 0.001$), den histologischen Grad des Tumors ($p = 0.008$), den Lymphknotenbefall ($p < 0.001$), die Hämangiose ($p = 0.016$) und durch den hohen Blutdruck ($P = 0.047$) beeinflusst (Tabelle 12).

7 DISKUSSION

Obwohl mehr als 50% der Patientinnen mit Endometriumkarzinomen im FIGO-Stadium I diagnostiziert wurden, sind circa 20 % in Folge der Krankheit gestorben.¹⁰²

Hier ergibt sich eine ungewöhnliche Situation im Vergleich mit anderen soliden Tumoren. Es kann das Fehlen der aktuellen Diagnostik widerspiegeln, um Krebsvorstufen und Patientinnen mit schlechterer Prognose zu identifizieren.

Es besteht ein klinisches Bedürfnis für einfache und effiziente Marker, die die Aktivität des Endometriums (insbesondere bezüglich der endometrialen Karzinogenese und prognostischer Faktoren) bezeichnen.

In dieser großen Studie von 293 analysierten Fällen stand der Mangel an Expression des ER- α und des PR-A bei Patientinnen mit Endometriumkarzinom im Zusammenhang mit schlechter Differenzierung, was bereits früher in der Literatur bezüglich dieser klassischen Steroidrezeptoren diskutiert wurde.⁷⁶⁻⁸²

Zusätzlich haben wir zum ersten Mal einen Zusammenhang zwischen PR-B und Tumordifferenzierung demonstriert. Interessanterweise stand nur die Expression des PR-A in Zusammenhang mit dem chirurgischen Stadium. Darüber hinaus konnten

wir keine signifikante Korrelation des ER- β mit den klinisch-pathologischen Eigenschaften zeigen.

Hinsichtlich des Überlebens konnten wir zeigen, dass ER- α , PR-A und PR-B signifikante prognostische Marker darstellen in Hinsicht auf das progressionsfreie Überleben und das ursachenspezifische Überleben in der Univariate-Analyse. Wir haben festgestellt, dass der Rezeptorstatus kein unabhängiger prognostischer Faktor ist und somit die Ergebnisse der anderen Autoren bestätigt. ¹⁰³⁻¹⁰⁶

Interessanterweise war nur die immunohistochemische Expression von PR-B ein unabhängiger prognostischer Faktor für das ursachenspezifische Überleben. In der letzten Zeit haben wir eine signifikante Korrelation des ER- α und PR-A mit Inhibin/Activin-Untereinheiten im Endometriumkarzinom demonstriert. Die Inhibin- α -Untereinheit wurde als unabhängiger prognostischer Faktor gezeigt. Ob die Steroidrezeptoren (ER und PR) durch Proteine der TGF- β Familie reguliert werden, ist noch zu untersuchen.

Man glaubt, dass der ER- α Status prognostische Aussagen unabhängig vom Stadium und dem histologischen Grad des Endometriumkarzinoms treffen kann. ^{81, 99,}

¹⁰⁷ Interessanterweise war das ER- β /ER- α mRNA-Verhältnis hoch bei fortgeschrittenen invasiven Karzinomen, was andeutet, dass ER- β wichtig bei der Myometriuminvasion ist. ¹⁰⁸

Die intakte synchrone Expression des ER- β in Interaktion mit dem ER- α könnte in malignen Endometriumtumoren gestört werden, ¹⁰⁹ und somit eine wichtige Rolle in der Pathogenese des Endometriumtumors spielen. Trotzdem konnten wir weder einen signifikanten Zusammenhang zwischen der immunhistochemischen Expression des ER- β und verschiedenen klinisch-pathologischen Merkmalen, noch

einen Zusammenhang mit dem Überleben von Patientinnen mit Endometriumkarzinom nachweisen.

Eine isolierte Auswertung der ER- β Expression im Vergleich zum Tumorstadium, oder als ein prognostischer Marker konnte keine Vorteile bei Patientinnen mit Endometriumkarzinom bringen. Zusätzlich konnten wir keinen Zusammenhang zwischen dem ER- α und beiden PR Rezeptoren mit ER- β beweisen. Diese Tatsache könnte für einen unterschiedlichen Regulations- und Signalisierungsmechanismus des ER- β im Endometriumkarzinom sprechen. Deswegen denken wir, dass die Bestimmung von ER- β nur nützlich in Zusammenhang mit der von ER- α ist, da das Verhältnis der beiden Steroidrezeptoren wahrscheinlich aussagekräftiger ist, als die separate Bewertung.

Das Progesteron hatte auch Einfluss auf die Entwicklung des Endometriumkarzinoms, mit Auswirkung auf seine zwei Rezeptoren PR-A und PR-B. Eine Verringerung von PR-B wurde bei niedrig differenzierten Zelllinien des Endometriumkarzinoms festgestellt.⁷²

Interessanterweise können beide Isoformen der PR die Differenzierung in Zellen des Endometriumkarzinoms erhöhen. Das PR-A induziert die Zellseneszenz und das PR-B induziert einen sekretorischen Phänotyp.¹¹⁰ Die PR-B Isoform verursacht Zellwachstum im PR-A Knockout-Mäuse-Modell.¹¹¹ Das deutet ein Endometriumwachstum durch Wirkung des PR-B in Abwesenheit des PR-A an.¹¹² In dieser Arbeit war PR-A mehr als ER- α für krankheitsfrei Überlebenprädiktiv, wie schon von verschiedenen Autoren angedeutet.^{77, 83, 84, 113, 114} Allerdings gab es mehrere widersprüchliche Ergebnisse, bei welchen der Verlust der ER-Expression und nicht der PR-Expression in Zusammenhang mit schlechterer Überlebensrate war,^{79, 99, 115} was zu widersprüchlichen Diskussionen über die Nützlichkeit der Bestimmung der Rezeptoren beim Endometriumkarzinom führte.

Interessanterweise stellten Palmer et al.¹¹³ fest, dass der PR/ER Status signifikant im Zusammenhang mit dem Überleben steht und zeigten, dass der PR uns die nützlichsten Informationen für die größte Zahl der Patientinnen gibt, falls nur ein Rezeptor bestimmt werden kann.

Trotzdem haben die statistischen Methoden und die große Anzahl an analysierten Fällen dieser Studie klare Unterschiede zwischen der Wichtigkeit der Immunohistochemie des PR und des ER festgestellt.

Zusätzlich zeigten wir einen signifikanten Zusammenhang zwischen der PR-B Expression und dem Überleben der Patientinnen. In einer aktuellen Arbeit wurde festgestellt, dass eine drastische Abnahme des PR-B (aber nicht PR-A) eine schlechte Prognose bei Patientinnen mit Endometriumkarzinom aufweist.¹¹⁶

Unsere Ergebnisse scheinen auch von einer neuen Studie mit 141 Patientinnen bestätigt zu sein, in welcher die PR-A und die PR-B Expression signifikant in Zusammenhang mit dem biologisch malignen Potential war. Insbesondere der PR-B war andeutungsweise ein nützlicher prognostischer Indikator des Endometriumkarzinoms.¹¹⁷

In dieser Arbeit zeigte sich PR-B als einziger Steroidrezeptor, der als unabhängiger prognostischer Faktor im ursachenspezifischen Überleben anzusehen ist. Deswegen behaupten wir, dass PR-B zur Bestimmung eines individuellen Risikoprofils und zum Aussuchen der Hoch-Risiko-Patientinnen geeigneter ist als ER- α , ER- β und PR-A.

Zusammenfassend zeigten wir eine Expression der beiden Estrogenrezeptoren (ER- α und ER- β) sowie der beiden Progesteronrezeptoren (PR-A und PR-B) in malignem Endometriumgewebe. Der Verlust der Rezeptorpositivität für ER- α , PR-A und PR-B hat ein schlechteres Überleben bei Patientinnen mit

Endometriumkarzinom zur Folge, während ER- β keine Wirkung auf das Überleben hat.

Zusätzlich zeigte die Überlebensanalyse, dass die PR-B Immunoreaktivität ein signifikanter unabhängiger prognostischer Faktor für das ursachenspezifische Überleben ist. Dagegen sind ER- α und PR-A keine unabhängigen Faktoren für das Überleben bei Patientinnen mit Endometriumkarzinom.

Deswegen könnte die immunohistochemische Bestimmung des PR-B eine einfache und hocheffiziente Methode zur Detektion der Hoch-Risikopatientinnen sein. PR-B könnte auch nützlich für die Auswahl von Patientinnen sein, die eine aggressivere adjuvante Chemotherapie benötigen.

8 LITERATURVERZEICHNIS

1. American Cancer Society [ACS]: Cancer Facts and Figures, 2005,
2. Arbeitsgemeinschaft bevölkerungsbezogener Krebsregister in Deutschland: Krebs in Deutschland- Häufigkeiten und Trends. Edited by 3. erweiterte aA. Saarbrücken, 2002
3. Amant F, Moerman P, Neven P, Timmerman D, Van Limbergen E, Vergote I: Endometrial cancer, *Lancet* 2005, 366:491-505
4. Ortmann O DK: Screening auf Endometriumkarzinom, *Der Gynäkologe* June 2002, 35, Number 6:
5. Tiffen JM, Mahon SM: Educating women regarding the early detection of endometrial cancer--what is the evidence? *Clin J Oncol Nurs* 2006, 10:102-104
6. Creasman WT: Endometrial cancer: incidence, prognostic factors, diagnosis, and treatment, *Semin Oncol* 1997, 24:S1-140-S141-150
7. Sherman ME: Theories of endometrial carcinogenesis: a multidisciplinary approach, *Mod Pathol* 2000, 13:295-308
8. Bokhman JV: Two pathogenetic types of endometrial carcinoma, *Gynecol Oncol* 1983, 15:10-17
9. Nyholm HC, Nielsen AL, Norup P: Endometrial cancer in postmenopausal women with and without previous estrogen replacement treatment: comparison of clinical and histopathological characteristics, *Gynecol Oncol* 1993, 49:229-235
10. Cohen CJ, Rahaman J: Endometrial cancer. Management of high risk and recurrence including the tamoxifen controversy, *Cancer* 1995, 76:2044-2052
11. Akhmedkhanov A, Zeleniuch-Jacquotte A, Toniolo P: Role of exogenous and endogenous hormones in endometrial cancer: review of the evidence and research perspectives, *Ann N Y Acad Sci* 2001, 943:296-315
12. Liehr J: Is Estradiol a Genotoxic Mutagenic Carcinogen? *Endocrine Reviews* 2000, 21:40-54

13. Deligdisch L, Holinka CF: Progesterone receptors in two groups of endometrial carcinoma, *Cancer* 1986, 57:1385-1388
14. Deligdisch L, Cohen CJ: Histologic correlates and virulence implications of endometrial carcinoma associated with adenomatous hyperplasia, *Cancer* 1985, 56:1452-1455
15. Emons G, Fleckenstein G, Hinney B, Huschmand A, Heyl W: Hormonal interactions in endometrial cancer, *Endocr Relat Cancer* 2000, 7:227-242
16. Dallenbach-Hellweg G: Endometrial carcinomas, *Curr Top Pathol* 1992, 85:1-34
17. Sherman ME, Sturgeon S, Brinton LA, Potischman N, Kurman RJ, Berman ML, Mortel R, Twiggs LB, Barrett RJ, Wilbanks GD: Risk factors and hormone levels in patients with serous and endometrioid uterine carcinomas, *Mod Pathol* 1997, 10:963-968
18. Scully RE BT, Kurman RJ, Silverberg SG, Wilkinson EJ: Histologic typing of femal genital tract tumours (international histologic classification of tumours). Edited by New York, Springer-Verlag, 1994, 1-189 p
19. Kurman R: Blaustein`pathology of the femal genital tract. Edited by New York, USA, Springer, 2002, 493 p
20. Dietel M: The histological diagnosis of endometrial hyperplasia. Is there a need to simplify? *Virchows Arch* 2001, 439:604-608
21. Mutter GL: Endometrial intraepithelial neoplasia (EIN): will it bring order to chaos? The Endometrial Collaborative Group, *Gynecol Oncol* 2000, 76:287-290
22. Baak JP, Mutter GL: EIN and WHO94, *J Clin Pathol* 2005, 58:1-6
23. Mutter GL: Histopathology of genetically defined endometrial precancers, *Int J Gynecol Pathol* 2000, 19:301-309
24. Baak JP, Mutter GL, Robboy S, van Diest PJ, Uytterlinde AM, Orbo A, Palazzo J, Fiane B, Lovslett K, Burger C, Voorhorst F, Verheijen RH: The molecular genetics and morphometry-based endometrial intraepithelial neoplasia classification system predicts disease progression in endometrial hyperplasia more accurately than the 1994 World Health Organization classification system, *Cancer* 2005, 103:2304-2312
25. Spiegel GW: Endometrial carcinoma in situ in postmenopausal women, *Am J Surg Pathol* 1995, 19:417-432
26. Sherman ME, Bur ME, Kurman RJ: p53 in endometrial cancer and its putative precursors: evidence for diverse pathways of tumorigenesis, *Hum Pathol* 1995, 26:1268-1274
27. Tashiro H, Isacson C, Levine R, Kurman RJ, Cho KR, Hedrick L: p53 gene mutations are common in uterine serous carcinoma and occur early in their pathogenesis, *Am J Pathol* 1997, 150:177-185
28. Loning T, Reusch U, Thomssen C: [Algorithm of clinical aspects and pathology of endometrial carcinoma], *Pathologie* 1999, 20:63-71
29. Melhem MF, Tobon H: Mucinous adenocarcinoma of the endometrium: a clinico-pathological review of 18 cases, *Int J Gynecol Pathol* 1987, 6:347-355
30. Kaufman M CS, Scharl A: *Die Gynäkologie*. Edited by Berlin, Springer-Verlag, 2002
31. Blumenfeld ML, Turner LP: Role of transvaginal sonography in the evaluation of endometrial hyperplasia and cancer, *Clin Obstet Gynecol* 1996, 39:641-655
32. Gull B, Carlsson S, Karlsson B, Ylostalo P, Milsom I, Granberg S: Transvaginal ultrasonography of the endometrium in women with postmenopausal bleeding: is it always necessary to perform an endometrial biopsy? *Am J Obstet Gynecol* 2000, 182:509-515
33. Kimmig R K, Höß C, Kolben M, Straub J: *Malignome des Corpus uteri*. Edited by p

34. Archer DF, McIntyre-Seltman K, Wilborn WW, Jr., Dowling EA, Cone F, Creasy GW, Kafrisen ME: Endometrial morphology in asymptomatic postmenopausal women, *Am J Obstet Gynecol* 1991, 165:317-320; discussion 320-312
35. Lax SF PE, Ronnett BM, Kurman RJ: Comparison of estrogen and progesterone receptor, Ki-67, and p53 immunoreactivity in uterine endometroid carcinoma and endometroid carcinoma with squamous, mucinous, secretory, and ciliated cell differentiation, *Hum Pathol*.1998 Sep;29(9):924-31 1998 Sep, 29(9):924-931
36. Partridge EE, Shingleton HM, Menck HR: The National Cancer Data Base report on endometrial cancer, *J Surg Oncol* 1996, 61:111-123
37. Gretz HFr, Economos K, Husain A, Lesser M, Kaplan E, Caputo TA, Reynolds RK, Johnston CM, Pearl ML, Roberts JA: The practice of surgical staging and its impact on adjuvant treatment recommendations in patients with stage I endometrial carcinoma, *Gynecol Oncol* 1996, 61:409-415
38. Yokoyama Y, Maruyama H, Sato S, Saito Y: Indispensability of pelvic and paraaortic lymphadenectomy in endometrial cancers, *Gynecol Oncol* 1997, 64:411-417
39. Shaeffer DT, Randall ME: Adjuvant radiotherapy in endometrial carcinoma, *Oncologist* 2005, 10:623-631
40. Poulsen HK, Jacobsen M, Bertelsen K, Andersen JE, Ahrons S, Bock JE, Bostofte E, Engelholm SA, Holund B, Jakobsen AK, Kiaer H, Nyland MH, Pedersen PH, Christophersen IS: [Patients with early stages of endometrial cancer should be spared adjuvant radiotherapy. Danish Endometrial Cancer Group], *Ugeskr Laeger* 1997, 159:3403-3407
41. Horowitz NS, Peters WA, 3rd, Smith MR, Drescher CW, Atwood M, Mate TP: Adjuvant high dose rate vaginal brachytherapy as treatment of stage I and II endometrial carcinoma, *Obstet Gynecol* 2002, 99:235-240
42. Larson DM, Broste SK, Krawisz BR: Surgery without radiotherapy for primary treatment of endometrial cancer, *Obstet Gynecol* 1998, 91:355-359
43. Pijnenborg JM, Smit RA, Kieback DG: Survival after relapse in patients with endometrial cancer: results from a randomized trial. C.L. Creutzberg, W.L.J. van Putten, P.C. Koper, et al., *Gynecologic Oncology* 89 (2003) 201-209, *Gynecol Oncol* 2004, 92:384; author reply 384-386
44. Keys HM, Roberts JA, Brunetto VL, Zaino RJ, Spirtos NM, Bloss JD, Pearlman A, Maiman MA, Bell JG: A phase III trial of surgery with or without adjunctive external pelvic radiation therapy in intermediate risk endometrial adenocarcinoma: a Gynecologic Oncology Group study, *Gynecol Oncol* 2004, 92:744-751
45. Morrow CP, Bundy BN, Homesley HD, Creasman WT, Hornback NB, Kurman R, Thigpen JT: Doxorubicin as an adjuvant following surgery and radiation therapy in patients with high-risk endometrial carcinoma, stage I and occult stage II: a Gynecologic Oncology Group Study, *Gynecol Oncol* 1990, 36:166-171
46. Martin-Hirsch PL, Jarvis G, Kitchener H, Lilford R: Progestagens for endometrial cancer, *Cochrane Database Syst Rev* 2000, CD001040
47. Randall ME, Filiaci VL, Muss H, Spirtos NM, Mannel RS, Fowler J, Thigpen JT, Benda JA: Randomized phase III trial of whole-abdominal irradiation versus doxorubicin and cisplatin chemotherapy in advanced endometrial carcinoma: a Gynecologic Oncology Group Study, *J Clin Oncol* 2006, 24:36-44
48. Vaidya AP, Littell R, Krasner C, Duska LR: Treatment of uterine papillary serous carcinoma with platinum-based chemotherapy and paclitaxel, *Int J Gynecol Cancer* 2006, 16 Suppl 1:267-272
49. Humber C, Tierney J, Symonds P, Collingwood M, Kirwan J, Williams C, Green J: Chemotherapy for advanced, recurrent or metastatic endometrial carcinoma, *Cochrane Database Syst Rev* 2005, CD003915

50. Sovak MA, Hensley ML, Dupont J, Ishill N, Alektiar KM, Abu-Rustum N, Barakat R, Chi DS, Sabbatini P, Spriggs DR, Aghajanian C: Paclitaxel and carboplatin in the adjuvant treatment of patients with high-risk stage III and IV endometrial cancer: A retrospective study, *Gynecol Oncol* 2006,
51. Thigpen JT, Brady MF, Alvarez RD, Adelson MD, Homesley HD, Manetta A, Soper JT, Given FT: Oral medroxyprogesterone acetate in the treatment of advanced or recurrent endometrial carcinoma: a dose-response study by the Gynecologic Oncology Group, *J Clin Oncol* 1999, 17:1736-1744
52. Christopherson WM, Alberhasky RC, Connelly PJ: Carcinoma of the endometrium. II. Papillary adenocarcinoma: a clinical pathological study, 46 cases, *Am J Clin Pathol* 1982, 77:534-540
53. Christopherson WM, Alberhasky RC, Connelly PJ: Carcinoma of the endometrium: I. A clinicopathologic study of clear-cell carcinoma and secretory carcinoma, *Cancer* 1982, 49:1511-1523
54. Boruta DM, 2nd, Gehrig PA, Groben PA, Bae-Jump V, Boggess JF, Fowler WC, Jr., Van Le L: Uterine serous and grade 3 endometrioid carcinomas: is there a survival difference? *Cancer* 2004, 101:2214-2221
55. Hamilton CA, Cheung MK, Osann K, Chen L, Teng NN, Longacre TA, Powell MA, Hendrickson MR, Kapp DS, Chan JK: Uterine papillary serous and clear cell carcinomas predict for poorer survival compared to grade 3 endometrioid corpus cancers, *Br J Cancer* 2006, 94:642-646
56. Gusberg SB: Virulence factors in endometrial cancer, *Cancer* 1993, 71:1464-1466
57. Christopherson WM, Connelly PJ, Alberhasky RC: Carcinoma of the endometrium. V. An analysis of prognosticators in patients with favorable subtypes and Stage I disease, *Cancer* 1983, 51:1705-1709
58. Abeler VM, Kjorstad KE: Endometrial adenocarcinoma with squamous cell differentiation, *Cancer* 1992, 69:488-495
59. Dvalishvili I, Charkviani L, Turashvili G, Burkadze G: Clinical characteristics of prognostic factors in uterine endometrioid adenocarcinoma of various grade, *Georgian Med News* 2006, 24-27
60. Grulich D, Hagen A, Morack G: [Prognostic factors and results of treatment in endometrial carcinoma], *Zentralbl Gynakol* 1996, 118:154-163
61. Schenker JG, Tal J: Adenocarcinoma of the endometrium in Israel, 1960-1968, *Cancer* 1980, 46:2752-2758
62. Emons G, Heyl W: Hormonal treatment of endometrial cancer, *J Cancer Res Clin Oncol* 2000, 126:619-623
63. Martin JD, Hahnel R, McCartney AJ, Woodings TL: The effect of estrogen receptor status on survival in patients with endometrial cancer, *Am J Obstet Gynecol* 1983, 147:322-324
64. Konski A, Domenico D, Tyrkus M, Irving D, Neisler J, Phibbs G, Zeidner S, Eggleston W: Prognostic characteristics of surgical stage I endometrial adenocarcinoma, *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996, 35:935-940
65. Lindahl B, Ferno M, Gullberg B, Norgren A, Willen R: 5-year survival rate in endometrial carcinoma stage I-II related to steroid receptor concentration, degree of differentiation, age and myometrial invasion, *Anticancer Res* 1992, 12:409-412
66. Gal D, Recio FO, Zamurovic D, Tancer ML: Lymphovascular space involvement--a prognostic indicator in endometrial adenocarcinoma, *Gynecol Oncol* 1991, 42:142-145
67. Bellino R, Arisio R, D'Addato F, Alba E, Attini R, Colla F, Leotta E, Tersiev P, Griolo R: Pathologic features of endometrial carcinoma in elderly women, *Anticancer Res* 2001, 21:3721-3724

68. Creasman WT: Prognostic significance of hormone receptors in endometrial cancer, *Cancer* 1993, 71:1467-1470
69. Oreskovic S, Babic D, Kalafatic D, Barisic D, Beketic-Oreskovic L: A significance of immunohistochemical determination of steroid receptors, cell proliferation factor Ki-67 and protein p53 in endometrial carcinoma, *Gynecol Oncol* 2004, 93:34-40
70. Kuiper GG, Shughrue PJ, Merchenthaler I, Gustafsson JA: The estrogen receptor beta subtype: a novel mediator of estrogen action in neuroendocrine systems, *Front Neuroendocrinol* 1998, 19:253-286.
71. Kuiper GG, Carlsson B, Grandien K, Enmark E, Haggblad J, Nilsson S, Gustafsson JA: Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta, *Endocrinology* 1997, 138:863-870.
72. Kumar NS, Richer J, Owen G, Litman E, Horwitz KB, Leslie KK: Selective down-regulation of progesterone receptor isoform B in poorly differentiated human endometrial cancer cells: implications for unopposed estrogen action, *Cancer Res* 1998, 58:1860-1865
73. Leslie KK, Kumar NS, Richer J, Owen G, Takimoto G, Horwitz KB, Lange C: Differential expression of the A and B isoforms of progesterone receptor in human endometrial cancer cells. Only progesterone receptor B is induced by estrogen and associated with strong transcriptional activation, *Ann N Y Acad Sci* 1997, 828:17-26.
74. Graham JD, Clarke CL: Expression and transcriptional activity of progesterone receptor A and progesterone receptor B in mammalian cells, *Breast Cancer Res* 2002, 4:187-190
75. Graham JD, Roman SD, McGowan E, Sutherland RL, Clarke CL: Preferential stimulation of human progesterone receptor B expression by estrogen in T-47D human breast cancer cells, *J Biol Chem* 1995, 270:30693-30700.
76. Geisinger KR, Marshall RB, Kute TE, Homesley HD: Correlation of female sex steroid hormone receptors with histologic and ultrastructural differentiation in adenocarcinoma of the endometrium, *Cancer* 1986, 58:1506-1517.
77. Ehrlich CE, Young PC, Stehman FB, Sutton GP, Alford WM: Steroid receptors and clinical outcome in patients with adenocarcinoma of the endometrium, *Am J Obstet Gynecol* 1988, 158:796-807.
78. Carcangiu ML, Chambers JT, Voynick IM, Pirro M, Schwartz PE: Immunohistochemical evaluation of estrogen and progesterone receptor content in 183 patients with endometrial carcinoma. Part I: Clinical and histologic correlations, *Am J Clin Pathol* 1990, 94:247-254.
79. Chambers JT, Carcangiu ML, Voynick IM, Schwartz PE: Immunohistochemical evaluation of estrogen and progesterone receptor content in 183 patients with endometrial carcinoma. Part II: Correlation between biochemical and immunohistochemical methods and survival, *Am J Clin Pathol* 1990, 94:255-260.
80. Kadar N, Malfetano JH, Homesley HD: Steroid receptor concentrations in endometrial carcinoma: effect on survival in surgically staged patients, *Gynecol Oncol* 1993, 50:281-286.
81. Creasman WT: Prognostic significance of hormone receptors in endometrial cancer, *Cancer* 1993, 71:1467-1470.
82. Nyholm HC, Christensen IJ, Nielsen AL: Progesterone receptor levels independently predict survival in endometrial adenocarcinoma, *Gynecol Oncol* 1995, 59:347-351.
83. Fukuda K, Mori M, Uchiyama M, Iwai K, Iwasaka T, Sugimori H: Prognostic significance of progesterone receptor immunohistochemistry in endometrial carcinoma, *Gynecol Oncol* 1998, 69:220-225.
84. Kleine W, Maier T, Geyer H, Pfleiderer A: Estrogen and progesterone receptors in endometrial cancer and their prognostic relevance, *Gynecol Oncol* 1990, 38:59-65.

85. Sobin LH, Wittekind C: TNM Classification of Malignant Tumours. Edited by Hoboken, New Jersey, John Wiley & Sons, 2002, p
86. Hsu SM RL, Fanger H: A comparative study of the peroxidase-antiperoxidase method and an avidin-biotin complex method for studying polypeptide hormones with radioimmunoassay antibodies., *Am J Clin Pathol* 1981, May;75(75):734-738.
87. Mylonas I, Jeschke U, Shabani N, Kuhn C, Kunze S, Dian D, Friedl C, Kupka MS, Friese K: Steroid receptors (ER-alpha, ER-beta, PR-A and PR-B) are immunohistochemically differentially expressed in normal and atrophic human endometrium., *Histol Histopathol* 2006, in press:
88. Mylonas I, Jeschke U, Shabani N, Kuhn C, Kriegel S, Kupka MS, Friese K: Normal and malignant human endometrium express immunohistochemically estrogen receptor alpha (ER-alpha), estrogen receptor beta (ER-beta) and progesterone receptor (PR), *Anticancer Res* 2005, 25:1679-1686
89. Mylonas I, Jeschke U, Shabani N, Kuhn C, Balle A, Kriegel S, Kupka MS, Friese K: Immunohistochemical analysis of estrogen receptor alpha, estrogen receptor beta and progesterone receptor in normal human endometrium, *Acta Histochem* 2004, 106:245-252
90. Hsu SM RL, Fanger H: Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures., *J Histochem Cytochem.* 1981, 29:577-580.
91. Bourne J: Handbuch I der Immunperoxidase-Färbemethoden, 1983, 12-13
92. (Hrsg.). BT: *Handbuch Immunchemische Färbemethoden*. Edited by Hamburg, DakoCytomation Corporation, Carpinteria, DakoCytomation GmbH, 2003:2005-2079. p
93. Remmele W, Stegner HE: Vorschlag zur einheitlichen Definierung eines immunreaktiven Score (IRS) für den immunhistochemischen Östrogenrezeptornachweis (ER-ICA) im Mammakarzinomgewebe., *Pathologe* 1987, 8:138-140
94. Mylonas I, Speer R, Makovitzky J, Richter DU, Briese V, Jeschke U, Friese K: Immunohistochemical analysis of steroid receptors and glycodeilin A (PP14) in isolated glandular epithelial cells of normal human endometrium, *Histochem Cell Biol* 2000, 114:405-411.
95. Mylonas I, Makovitzky J, Richter DU, Jeschke U, Briese V, Friese K: Immunohistochemical expression of the tumour marker CA-125 in normal, hyperplastic and malignant endometrial tissue, *Anticancer Res* 2003, 23:1075-1080.
96. Mylonas I, Makovitzky J, Richter DU, Jeschke U, Briese V, Friese K: Cathepsin D expression in normal, hyperplastic and malignant endometrial tissue: an immunohistochemical analysis, *Acta Histochem* 2003, 105:245-252.
97. Mylonas I, Schiessl B, Jeschke U, Vogl J, Makrigiannakis A, Kuhn C, Kunze S, Schulze S, Kainer F, Friese K: Expression of Inhibin/activin Subunits alpha (-alpha), beta A (-beta (A)) and beta B (-beta (B)) in Placental Tissue of Normal and Intrauterine Growth Restricted (IUGR) Pregnancies, *J Mol Histol* 2006,
98. Mylonas I, Jeschke U, Wiest I, Hoeing A, Vogl J, Shabani N, Kuhn C, Schulze S, Kupka MS, Friese K: Inhibin/activin subunits alpha, beta-A and beta-B are differentially expressed in normal human endometrium throughout the menstrual cycle, *Histochem Cell Biol* 2004, 122:461-471
99. Pertschuk LP, Masood S, Simone J, Feldman JG, Fruchter RG, Axiotis CA, Greene GL: Estrogen receptor immunocytochemistry in endometrial carcinoma: a prognostic marker for survival, *Gynecol Oncol* 1996, 63:28-33.

100. Kaplan EL, Meier P: Nonparametric estimation from incomplete observations, *J Am Stat Assoc* 1958, 53:457-481.
101. Cox DR: Regression models and life tables., *J R Stat Soc B.* 1972, 34:187-220.
102. Jereczek-Fossa B, Badzio A, Jassem J: Surgery followed by radiotherapy in endometrial cancer: analysis of survival and patterns of failure, *Int J Gynecol Cancer* 1999, 9:285-294
103. Iversen OE, Utaaker E, Skaarland E: DNA ploidy steroid receptors as predictors of disease course in patients with endometrial carcinoma., *Acta Obstet Gynecol Scand* 1988, 67:531-537
104. Lukes AS, Kohler MF, Pieper CF, Kerns BJ, Bentley R, Rodriguez GC, Soper JT, Clarke-Pearson DL, Bast RC, Jr., Berchuck A: Multivariable analysis of DNA ploidy, p53, and HER-2/neu as prognostic factors in endometrial cancer, *Cancer* 1994, 73:2380-2385.
105. Sivridis E, Giatromanolaki A, Koukourakis M, Anastasiadis P: Endometrial carcinoma: association of steroid hormone receptor expression with low angiogenesis and bcl-2 expression, *Virchows Arch* 2001, 438:470-477.
106. Jeon YT, Park IA, Kim YB, Kim JW, Park NH, Kang SB, Lee HP, Song YS: Steroid receptor expressions in endometrial cancer: Clinical significance and epidemiological implication, *Cancer Lett* 2006, 239:198-204
107. Chambers JT, MacLusky N, Eisenfield A, Kohorn EI, Lawrence R, Schwartz PE: Estrogen and progesterin receptor levels as prognosticators for survival in endometrial cancer, *Gynecol Oncol* 1988, 31:65-81.
108. Takama F, Kanuma T, Wang D, Kagami I, Mizunuma H: Oestrogen receptor beta expression and depth of myometrial invasion in human endometrial cancer, *Br J Cancer* 2001, 84:545-549.
109. Fujimoto J, Sakaguchi H, Aoki I, Toyoki H, Tamaya T: Clinical implications of the expression of estrogen receptor-alpha and -beta in primary and metastatic lesions of uterine endometrial cancers, *Oncology* 2002, 62:269-277
110. Dai D, Wolf DM, Litman ES, White MJ, Leslie KK: Progesterone inhibits human endometrial cancer cell growth and invasiveness: down-regulation of cellular adhesion molecules through progesterone B receptors, *Cancer Res* 2002, 62:881-886.
111. Mulac-Jericevic B, Mullinax RA, DeMayo FJ, Lydon JP, Conneely OM: Subgroup of reproductive functions of progesterone mediated by progesterone receptor-B isoform, *Science* 2000, 289:1751-1754.
112. Lydon JP, DeMayo FJ, Funk CR, Mani SK, Hughes AR, Montgomery CA, Jr., Shyamala G, Conneely OM, O'Malley BW: Mice lacking progesterone receptor exhibit pleiotropic reproductive abnormalities, *Genes Dev* 1995, 9:2266-2278.
113. Palmer DC, Muir IM, Alexander AI, Cauchi M, Bennett RC, Quinn MA: The prognostic importance of steroid receptors in endometrial carcinoma, *Obstet Gynecol* 1988, 72:388-393.
114. Vecek N, Nola M, Marusic M, Ilic J, Babic D, Petroveckii M, Nikolic S, Marinovic T, Jukic D, Vecek N, Jr.: Prognostic value of steroid hormone receptors concentration in patients with endometrial carcinoma, *Acta Obstet Gynecol Scand* 1994, 73:730-733.
115. Morris PC, Anderson JR, Anderson B, Buller RE: Steroid hormone receptor content and lymph node status in endometrial cancer, *Gynecol Oncol* 1995, 56:406-411.
116. Sakaguchi H, Fujimoto J, Hong BL, Nakagawa Y, Tamaya T: Drastic decrease of progesterone receptor form B but not A mRNA reflects poor patient prognosis in endometrial cancers, *Gynecol Oncol* 2004, 93:394-399
117. Miyamoto T, Watanabe J, Hata H, Jobo T, Kawaguchi M, Hattori M, Saito M, Kuramoto H: Significance of progesterone receptor-A and -B expressions in endometrial adenocarcinoma, *J Steroid Biochem Mol Biol* 2004, 92:111-118

9 DANKSAGUNG

Herrn Priv. Doz. Dr. Udo Jeschke, Leiter des wissenschaftlichen Labors der I. Frauenklinik (LMU München) gilt mein besonderer Dank für die Betreuung und für die konstruktiven Kritiken.

Ich möchte mich besonders bei Dr. med. Ioannis Mylonas, wissenschaftlicher Mitarbeiter der I. Frauenklinik (LMU München), für die gute Kooperation und Mithilfe bedanken.

Mein besonderer Dank geht weiterhin an die Medizinischen Technischen Assistentinnen des wissenschaftlichen Labors der I. Frauenklinik (LMU München): Irmie Wiest, Christina Kuhn, Susi Kunze und Sandra Schulze für die ausgezeichneten Anfertigungen der HE und immunohistologischen Schnitte.

Ich bedanke mich auch bei Prof. D. Hölzel - Institut der Medizinischen Informatik, Biometrie und Epidemiologie, LMU München und bei Herrn M. Schmidt, Münchener Tumorregister, für die Überlebensdaten.

Schließlich danke ich Herrn Prof Dr. K. Friese, Direktor der Universitätsfrauenklinik (LMU München), für seine Unterstützung.

10 Abkürzungen

ER- α :	Estrogenrezeptor alpha
ER- β :	Estrogenrezeptor beta
PR-A:	Progesteronrezeptor A
PR-B	Progesteronrezeptor B
ACS :	American Cancer Society
PCO:	Polyzystisches Ovary Syndrom
PTEN :	Phosphatase and Tensin homolog deleted on chromosome Ten
EH:	Einfache Hyperplasie
EIN:	Endometriale Intraepitheliale Neoplasie
EIC:	Endometriales Intraepitheliales Karzinom
WHO:	World Health Organisation
ISGYP:	International Society of Gynecological Pathologists
PAS:	Periodic Acid Schiff
LN:	Lymphnode
LNE	Lymphnodektomie
PMB:	Postmenopausenblutung
MPA:	Medroxyprogesteronacetat
PORTEC:	The Postoperative Radiation Therapy in Endometrial Carcinoma
GOG:	The Gynecologic Oncology Group
FIGO :	Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstetrique
DNA:	Deoxyribonucleic acid
PAP :	Peroxidase-Anti-Peroxidase-Technik
APAAP :	Alkalische-Phosphatase-Anti-Alkalische-Phosphatase-Technik
ABC:	Avidin-Biotin-Komplex-Technik
A:	Avidin
B:	Biotin
E:	Enzym
Ag:	Antigen
PBS:	Phosphate Buffered Saline
IRS:	Immunoreactive Score
NS:	Nicht Signifikant

11 Tabellen, Abbildungen und Legende

Tabelle 1. Pathogenetische Formen des Endometriumkarzinoms (nach Bokhman, 1983)

Parameter	Typ I	Typ II
Beginn der Menopause	> 50 J	<50 J
Menopausenstatus bei Dg	Prä-/perimenopausal	Postmenopausal
Adipositas	Ja	Nein
Hyperlipidemie	Ja	Nein
Diabetes mellitus	Ja	Nein
“Estrogendominanz”	Ja	Nein
Dauer der Symptome	Lang	Kurz
Vorläuferläsion	Atypische Hyperplasie	EIC
Grad der Tumordifferenzierung	G1 und G2	G3
Histologischer Typ	Endometrioid	Serös, klarzellig, undiff.
Myometrane Tumorinvasion	Meist oberflächlich	Meist tief
Lymphogene Metastasierung	Selten	Häufig
Biologisches Verhalten	Wenig invasiv	Aggressiv
Empfindlichkeit gegenüber		
Gestagenen	Hoch	Gering
Genetische Alteration	PTEN-/K-ras- Mutation	P53-Mutation
Prognose	Günstig	Schlecht

Tabelle 2. Vergleich zwischen WHO Klassifikation und den neuen vorgeschlagenen Nomenklaturen

WHO- vierklassiges System (Scully et al 1994)	EIN Gruppe- zweiklassiges System (Mutter et al. 2000)
Einfache nicht-atypische Hyperplasie	
Komplexe nicht-atypische Hyperplasie	Endometriale Hyperplasie
Einfache atypische Hyperplasie	
Komplexe atypische Hyperplasie	Endometriale intraepitheliale Neoplasie (EIN)

Tabelle 3. Funktionale, diagnostische und therapeutische Aspekte der Endometrialen Intraepithelialen Neoplasie (EIN) Klassifikation

EIN Nomenklatur	Topographie	Funktionale Kategorien	Behandlung
Benigne architekt. Veränderungen bei ungehinderter Estrogenwirkung (Endometriumhyperplasie)	Diffus	Estrogeneffekt	Hormonale Behandlung
EIN	Fokal, später diffus	Präkanzerös	Hormonal oder chirurgisch
Karzinom	Fokal, später diffus	Krebs	Chirurgisch, je nach Stadium

Tabelle 4. Subjektive histologische Kriterien für EIN. Alle Kriterien müssen für die Diagnose des EIN erfüllt werden.

EIN Merkmal	Kommentare
Architektur	Drüsige Areale mehr als Stroma
Zytologie	Zytolog. Veränderungen zwischen Drüsen und Stroma
Diameter > 1mm	Max. lineare Grösse der Läsion > 1mm
Ausschluss ähnlicher Veränderungen	Benig. Läsionen: Polypen, regenerat.-sekretorische Veränderungen, usw.
Karzinomausschluss	Karzinom, wenn geschlängelte drüsige Formationen, solide oder kribiforme Anteile

Tabelle 5. Klassifikation des Endometriumkarzinoms (modifizierte Version von WHO/ISGYP)

Endometrioides Adenokarzinom
Willoglandulärer Typ
Sekretorischer Typ
Flimmerepithelialer Typ
Adenokarzinom mit Plattenepitheldifferenzierung
Seröses Karzinom
Mucinöses Karzinom
Klarzelliges Karzinom
Platenepithelkarzinom
Gemischte Karzinome
Undifferenziert

Tabelle 6. TNM und FIGO Klassifikation des Endometriumkarzinom

FIGO			TNM	
		Primärer Tumor kann nicht bewertet werden	TX	
		Keine Angaben über den primären Tumor	T0	
0		Carcinoma in situ (präinvasives Karzinom)	Tis	
I		Tumor begrenzt auf Corpus uteri	T1	
	IA	Tumor begrenzt auf Endometrium		T1a
	IB	Tumor infiltriert innere Hälfte des Myometriums		T1b
	IC	Tumor infiltriert innere Hälfte des Myometriums		T1c
II		Tumor infiltriert Zervix, breitet sich jedoch nicht jenseits des Uterus aus	T2	
	IIA	Lediglich endozervikaler Drüsenbefall		T2a
	IIB	Invasion des Stroma der Zervix		T2b
III		Lokale und/oder regionale Ausbreitung wie in IIIA, B, C	T3 und/oder N1	
	IIIA	Tumor befällt Serosa und/oder Adnexe (durch direkte Ausbreitung oder Metastase) und/oder Tumorzellen in Ascites oder Peritonealspülung		T3a
	IIIB	Vaginalbefall (direkte Ausbreitung oder Metastase)		T3b
	IIIC	Metastasen in Becken- und/oder paraaortalen Lymphknoten	N1	
IVA		Tumor infiltriert Blasen- und/oder Darmschleimhaut <i>Anmerkung: Das Vorhandensein eines bullösen Ödems genügt nicht, um einen Tumor als T4 zu klassifizieren</i>	T4	
IVB		Fernmetastasen (ausgenommen Metastasen in Vagina, Beckenserosa oder Adnexen, einschließlich Metastasen in Leistenlymphknoten und/oder anderen intraabdominalen Lymphknoten, als paraaortalen Lymphknoten)	M1	

Tabelle 7. Antikörper zur immunohistologischen Charakterisierung der endometrialen glandulären Zellen (ER= Estrogenrezeptor; PR= Progesteronrezeptor)

Antibody	Clone	Isotype	Dilution	Source
ER-α	1D5	mouse IgG ₁	1:150	Immunotech, Hamburg, Germany
ER-β	PPG5/10	mouse IgG _{2a}	1:50	Serotec, Oxford, United Kingdom
PR-A	10A9	mouse IgG _{2a}	1:50	Immunotech, Hamburg, Germany
PR-B	SAN27	mouse IgG ₁	1:50	NovoCastr, Newcastle, United Kingdom

Tabelle 8: Klinisch-pathologische Merkmale der analysierten Endometriumkarzinome

		gesamt (n=293)	endometrioides Adenokarzinom (n=256)	nicht-endometrioid (n=37)
Alter	< 65	148 (50.5%)	133 (52%)	15 (40.5%)
	> 65	145 (49.5%)	123 (48%)	22 (59.5%)
WHO Grad	Grad 1	160 (54.6%)	151 (59%)	9 (24.3%)
	Grad 2	80 (27.3%)	72 (28.1%)	8 (21.6%)
	Grad 3	53 (18.1%)	33 (12.9%)	20 (54.1%)
FIGO Stadium	FIGO I	219 (74.7%)	197 (77%)	22 (59.5%)
	FIGO II	21 (7.2%)	19 (7.4%)	2 (5.4%)
	FIGO III	45 (15.4%)	33 (12.9%)	12 (32.4%)
	FIGO IV	8 (2.7%)	7 (2.7%)	1 (2.7%)
LN status	negativ	186 (63.5%)	162 (63.3%)	24 (64.9%)
	positiv	23 (7.8%)	18 (7%)	5 (13.5%)
	unbekant	84 (28.7%)	76 (29.7%)	8 (21.6%)
Lymphangiosis	negativ	265 (90.4%)	234 (91.4%)	31 (83.8%)
	positiv	28 (9.6%)	22 (8.6%)	3 (16.2%)
Hämangiosis	negativ	285 (97.3%)	249 (97.3%)	36 (97.3%)
	positiv	8 (2.7%)	7 (2.7%)	1 (2.7%)
Diabetes	negativ	260 (88.7%)	227 (88.7%)	33 (89.2%)
	positiv	33 (11.3%)	29 (11.3%)	4 (10.8%)
Adipositas	negativ	194 (66.2%)	168 (65.6%)	26 (70.3%)
	positiv	99 (33.8%)	88 (34.3%)	11 (29.7%)
Hypertension	negativ	178 (60.8%)	153 (59.8%)	25 (67.6%)
	positiv	115 (39.2%)	103 (40.2%)	12 (32.4%)
Radiotherapie	negativ	171 (58.4%)	150 (58.6%)	21 (56.8%)
	positiv	116 (39.6%)	100 (39.1%)	16 (43.2%)
	verweigert	6 (2.0%)	6 (2.3%)	0 (0%)
Anti-Hormontherapie	negativ	282 (96.2%)	247 (96.5%)	35 (94.6%)
	positiv	11 (3.8%)	9 (3.5%)	2 (5.4%)
	verweigert	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

Tabelle 9: Zusammenfassung der immunohistologischen Analyse der Endometriumkarzinome

		gesamt (n=293)	endometrioides Karzinom			nicht-endometrioides Karzinom		
			endometrioid (n=214)	muzinös (n=12)	gemischt (n=34)	serös (n=23)	klarzellig (n=5)	nicht differenziert (n=5)
ER-α	Median	2	2	3	2	2	0	6
	mean+/-SD	3.00+/-2.89	3.07+/-2.91	4.17+/-2.59	2.85+/-2.78	1.96+/-2.03	0.4+/-0.89	5.8+/-4.92
	Negativ	164 (56.0%)	160 (74.8%)	10 (83.3%)	29 (85.3%)	17 (73.9%)	4 (80%)	5 (100%)
	positiv	129 (44.0%)	54 (25.2%)	2 (16.7%)	5 (14.7%)	6 (26.1%)	1 (20%)	0 (0%)
	Kruskal-Wallis	0.009						
	χ^2	0.578						
ER-β	Median	0	0	0	0	0	0	0
	mean+/-SEM	0.56+/-0.96	0.28+/-0.91	0.08+/-0.29	0.12+/-0.48	0.74+/-0.69	5.6+/-2.04	1.6+/-3.05
	negativ	253 (86.3%)	179 (84%)	12 (100%)	31 (91.2%)	15 (65.2%)	4 (80%)	4 (80%)
	positiv	40 (13.7%)	34 (16.3%)	0 (0%)	3 (8.8%)	8 (34.8%)	1 (20%)	1 (20%)
	Kruskal-Wallis	0.071						
	χ^2	0.084						
PR-A	Median	3	3	2.5	2	2	0	0
	mean+/-SEM	3.22+/-3.04	3.53+/-3.05	3.08+/-2.47	2.68+/-2.99	2.3+/-3.15	0.2+/-0.45	1.4+/-1.17
	negativ	145 (49.5%)	114 (53.3%)	7 (58.3%)	23 (67.6%)	19 (82.6%)	5 (100%)	4 (80%)
	positiv	148 (50.5%)	100 (46.7%)	5 (41.7%)	11 (32.4%)	4 (17.4%)	0 (0%)	1 (20%)
	Kruskal-Wallis	0.006						
	χ^2	0.038						
PR-B	Median	4	4	6	3	2	0	0
	mean+/-SEM	4.53+/-3.58	4.95+/-3.56	5.17+/-3.51	3.65+/-3.26	2.7+/-3.1	0.2+/-0.45	3.6+/-4.93
	negativ	104 (35.5%)	116 (54.2%)	2 (16.7%)	18 (52.9%)	17 (73.9%)	5 (100%)	2 (40%)
	positiv	189 (64.5%)	98 (45.8%)	10 (83.3%)	16 (47.1%)	6 (26.1%)	0 (0%)	3 (60%)
	Kruskal-Wallis	0.001						
	χ^2	0.018						

Tabelle 10: Univariate statistische Analyse des positiven Estrogenrezeptors alpha (ER- α), Estrogenrezeptors beta (ER- β), Progesteronrezeptors A (PR-A) und Progesteronrezeptors B (PR-B), anhand der verschiedenen klinisch-pathologischen Merkmalen. N.S.= nicht signifikant

		gesamt (n=293)	ER- α	ER- β	PR-A	PR-B
Alter(Jahre)	< 65	148 (50.5%)	64 (43.2%)	19 (13.1%)	76 (51.3%)	96 (64.9%)
	> 65	145 (49.5%)	65 (44.8%)	21 (14.5%)	72 (49.7%)	93 (64.1%)
	χ^2		N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
WHO Grad	Grad 1 + 2	240 (81.9%)	113 (47.1%)	30 (12.5%)	135 (56.3%)	164 (68.3%)
	Grad 3	53 (18.1%)	16 (30.2%)	10 (18.9%)	13 (24.5%)	25 (47.2%)
	χ^2		0.032	N.S.	<0.001	0.004
FIGO Stadium	FIGO I + II	240 (81.9%)	112 (46.7%)	33 (13.8%)	132 (55.0%)	161 (67.1%)
	FIGO III + IV	53 (18.1%)	17 (29.1%)	7 (17.0%)	16 (30.2%)	28 (52.8%)
	χ^2		0.066	N.S.	0.001	0.058
Histologie	endometrioid	256 (87.4%)	119 (46.5%)	31 (12.1%)	137 (53.5%)	173 (67.6%)
	nicht- endometrioid	37 (12.6%)	10 (27.1%)	9 (24.3%)	11 (29.7%)	16 (43.2%)
	χ^2		0.033	0.068	0.008	0.005
LN Status	negativ	186 (63.5%)	84 (45.2%)	38 (20.4%)	99 (53.2%)	123 (66.1%)
	positiv	23 (7.8%)	7 (30.4%)	1 (2.7%)	8 (34.8%)	11(47.8 %)
	unbekannt	84 (28.7%)	38 (45.2%)	12 (14.3%)	41 (48.8%)	55 (65.5%)
	χ^2		N.S..	N.S..	N.S..	N.S..
Lymphangiosis	negativ	265 (90.4%)	119 (44.9%)	38 (14.3%)	136 (51.3%)	172 (64.9%)
	positiv	28 (9.6%)	10 (35.7%)	2 (7.1%)	12 (42.9%)	17 (60.7%)
	χ^2		N.S..	N.S..	N.S..	N.S..
Hämangiosis	negativ	285 (97.3%)	126 (44.2%)	40 (14.1%)	147 (51.6%)	185 (64.9%)
	positiv	8 (2.7%)	3 (37.5%)	0 (0%)	1 (12.5%)	4 (50%)
	χ^2		N.S..	N.S..	0.035	N.S..
Diabetes	negativ	260 (88.7%)	116 (44.6%)	34 (13.1%)	130 (50%)	165 (63.5%)
	positiv	33 (11.3%)	13 (39.4%)	6 (18.2%)	18 (54.4%)	24 (72.7%)
	χ^2		N.S..	N.S..	N.S..	N.S..
Adipositas	negativ	194 (66.2%)	86 (44.3%)	30 (15.5%)	92 (47.4%)	121 (62.4%)
	positiv	99 (33.8%)	46 (46.5%)	10 (10.1%)	56 (56.6%)	68 (68.7%)
	χ^2		N.S..	N.S..	N.S..	N.S..

Hypertension	negativ	178 (60.6%)	76 (42.7%)	24 (13.5%)	90 (50.6%)	113 (63.4%)
	positiv	115 (39.4%)	53 (46.1%)	15 (13.0%)	58 (50.4%)	76 (66.1%)
	χ^2		N.S..	N.S..	N.S..	N.S..
Radiotherapie	negativ	177 (60.4%)	82 (46.3%)	25 (14.1%)	96 (54.2%)	115 (65%)
	positiv	116 (39.6%)	47 (40.5%)	15 (12.9%)	52 (44.8%)	74 (63.8%)
	χ^2		N.S..	N.S..	N.S..	N.S..
Anti-Hormon- therapie	negativ	282 (96.2%)	124 (44%)	40 (14.2%)	142 (50.4%)	183 (64.9%)
	positiv	11 (3.8%)	5 (45.5%)	0 (0%)	6 (54.5%)	6 (54.5%)
	χ^2		N.S..	N.S..	N.S..	N.S..

Tabelle 11: Korrelation zwischen dem Estrogenrezeptor alpha (ER- α), Estrogenrezeptor beta (ER- β), Progesteronrezeptor A (PR-A) und Progesteronrezeptor B (PR-B) in allen Mustern des Endometriumkarzinoms. N.S. = nicht Signifikant.

		ER-α	ER-β	PR-A	PR-B
ER-α	Korrelationskoeffizient		0.012	0.352	0.390
	<i>p</i>	.	<i>N.S.</i>	<0.001	<0.001
ER-β	Korrelationskoeffizient	0.012		.014	.045
	<i>p</i>	<i>N.S.</i>	.	<i>N.S.</i>	<i>N.S.</i>
PR-A	Korrelationskoeffizient	0.352	.014		.537
	<i>p</i>	<0.001	<i>N.S.</i>	.	<0.001
PR-B	Korrelationskoeffizient	0.390	.045	.537	
	<i>p</i>	<0.001	<i>N.S.</i>	<0.001	.

Tabelle 12: Risikoanteil bei multivariater Cox Regressionsanalyse.

	Progressionsfreies Überleben			Ursache -spezifisches Überleben			Gesamtüberleben		
	RR	CI (5%-95%)	p	RR	CI (5%-95%)	p	RR	CI (5%-95%)	p
Alter (>65 Jahre)	-	-	-	3.948	1.97 – 7.93	<0.001	3.698	2.18 – 6.28	<0.001
WHO Grad (G1/G2 vs. G3)	3.332	1.72 – 6.44	<0.001	2.279	1.12 – 4.62	0.022	2.017	1.22 – 3.34	0.008
FIGO Stadium (I/II vs. III/IV)	13.79	6.8 – 27.95	<0.001	6.756	3.3 – 13.82	<0.001	4.328	2.34 – 8.02	<0.001
LN Status	0.414	0.21 – 0.81	0.010	-	-	-	0.362	0.23 – 0.58	<0.001
Hämangiosis			-	-	-	-	3.481	1.27 – 9.56	0.016
Hypertension			-				0.628	0.397 – 0.995	0.047
Adipositas	0.449	0.21 – 0.97	0.043	0.446	0.21 – 0.96	0.039			
PR-B (pos. vs. neg.)				0.458	0.24 – 0.88	0.019			

Abbildung 1: Expression der Estrogenrezeptoren (ER- α und ER- β) und Progesteronrezeptoren (PR-A und PR-B) im malignen humanen Endometriumgewebe.

ER- α zeigte mässige Expression in gut-differenzierten Endometriumkarzinomen (**Abbildung 1a, x150**) mit einer charakteristischen Färbungsreaktion des Zellkerns (**Abbildung 1b, x250**), während in den meisten Fällen des endometrioides Karzinoms keine Immunreaktion auf ER- β nachzuweisen war (**Abbildung 1c, x150**).

Eine positive Färbungsreaktion für ER- β ist in **Abbildung 1d, x250** gezeigt. Die Färbung für PR-A war intensiver im Vergleich zu ER- α (**Abbildung 1e, x250**) und überwiegend im Zellkern lokalisiert. (**Abbildung 1f, x400**). Die Immunreaktivität für PR-B war ähnlich wie bei PR-A, auch überwiegend im Zellkern lokalisiert (**Abbildung 1g-h, x150 und x250**).

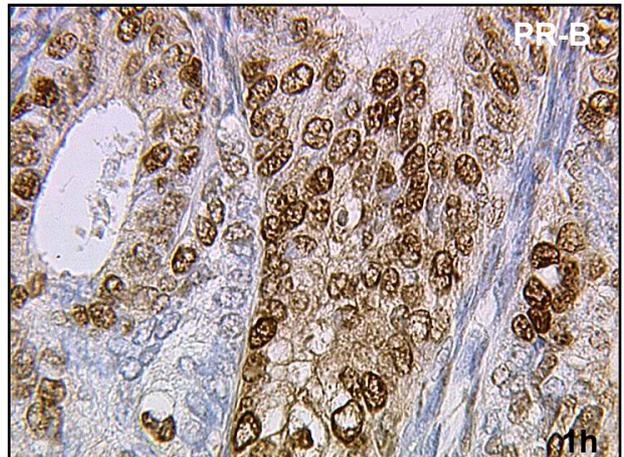
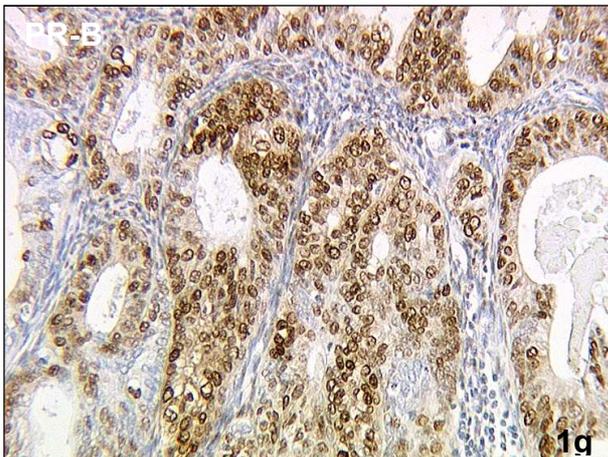
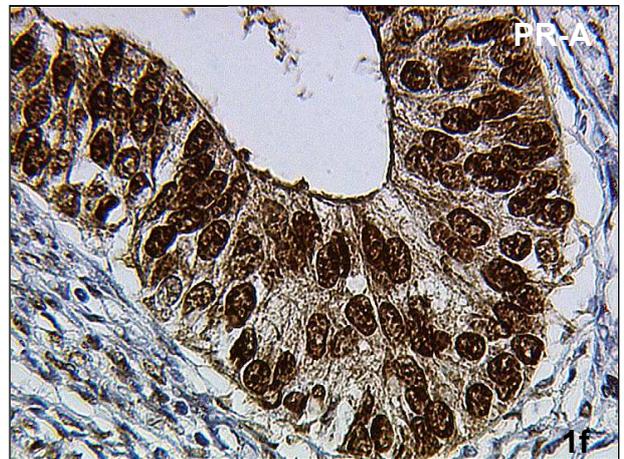
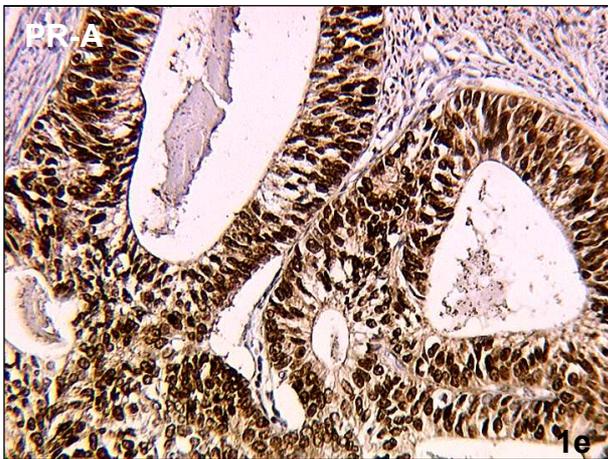
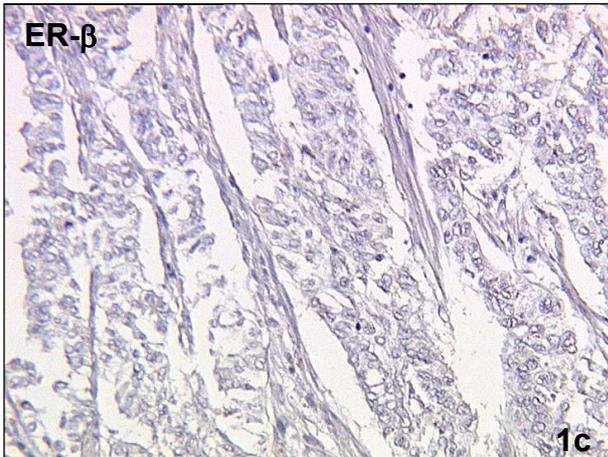


Abbildung 2: Kaplan-Meier Kurven des clinical Outcome in Bezug auf ER- α (Abbildung 2a), ER- β (Abbildung 2b), PR-A (Abbildung 2c) und PR-B (Abbildung 2d) für progressionfreies Überleben. ER- α , PR-A und PR-B zeigen eine signifikante Assoziation mit dem Überleben (log rank: $p=0.043$, $p=0.004$ und $p=0.011$).

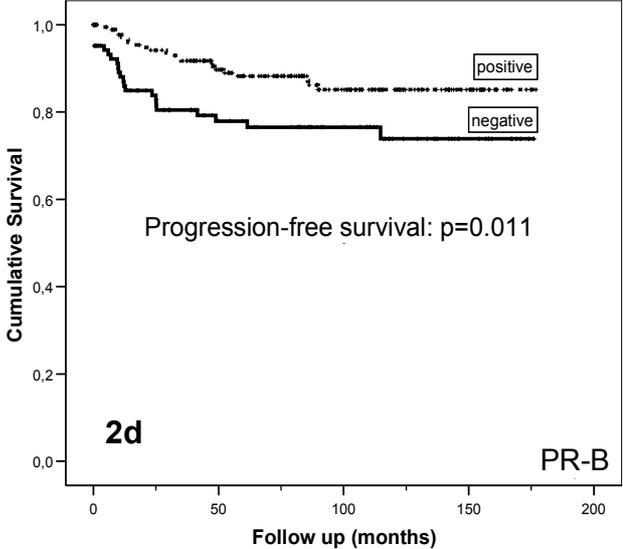
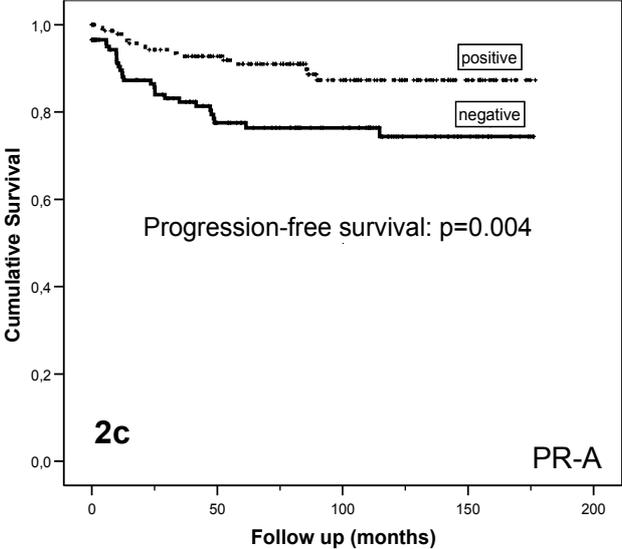
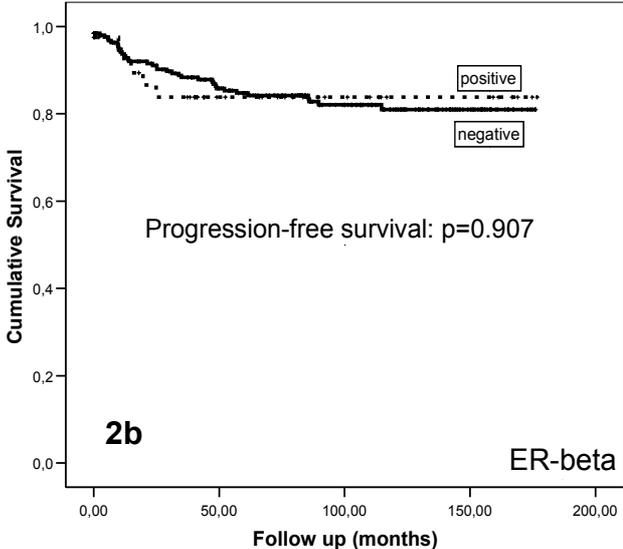
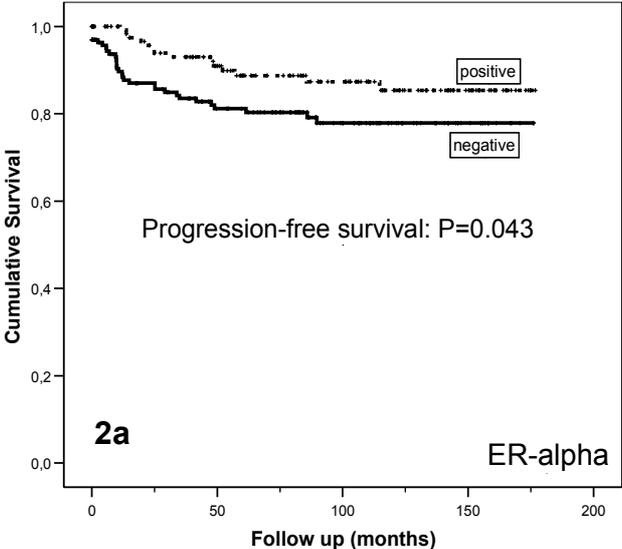


Abbildung 3: Kaplan-Meier Kurven des clinical Outcome in Bezug auf ER- α (Abbildung 3a), ER- β (Abbildung 3b), PR-A (Abbildung 3c) und PR-B (Abbildung 3d) für das ursachenspezifische Überleben. ER- α , PR-A und PR-B demonstrieren eine signifikante Assoziation mit dem Überleben (log rank: $p=0.023$, $p=0.004$ und $p=0.002$).

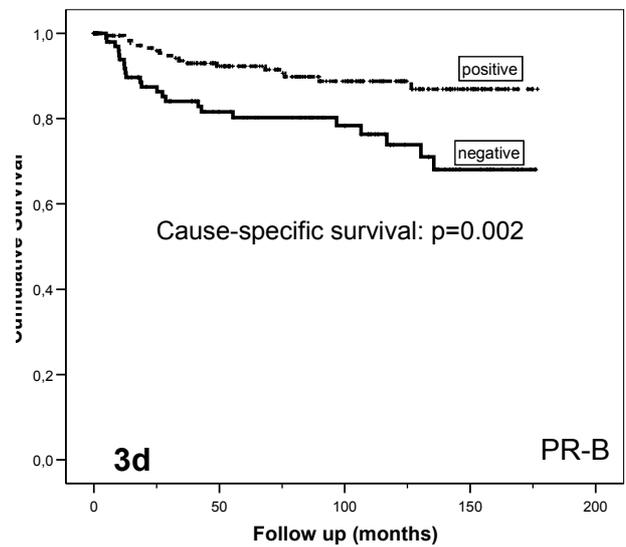
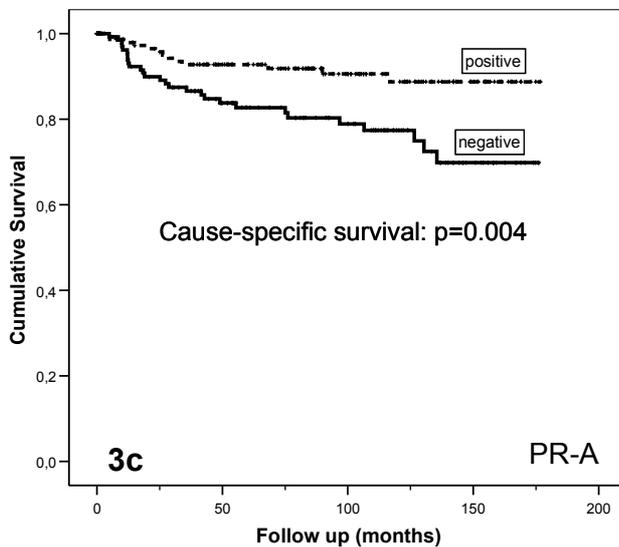
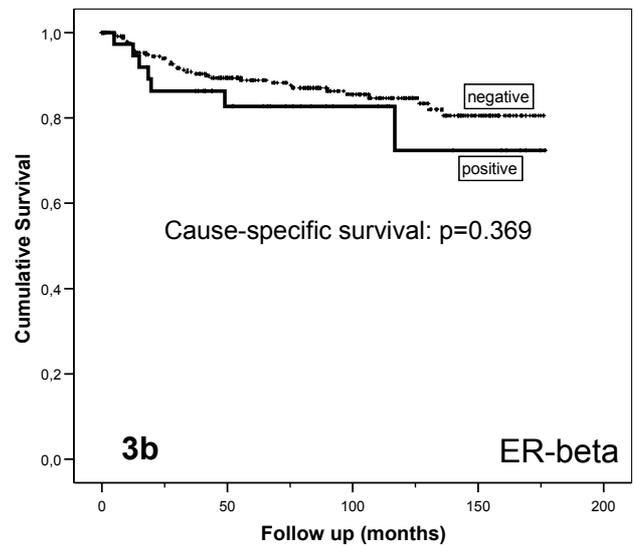
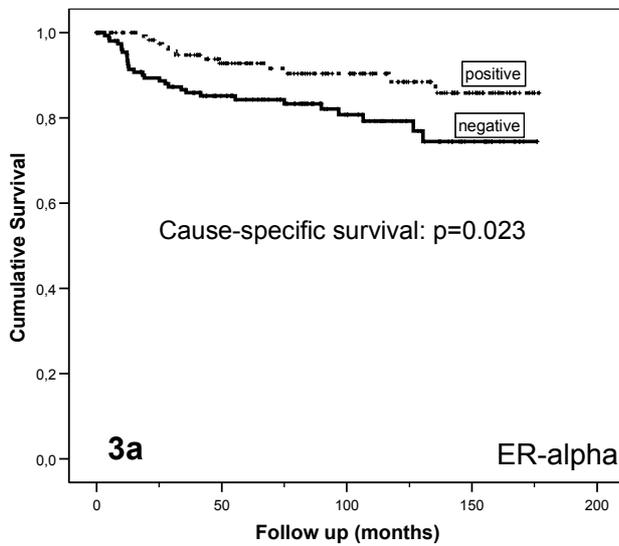


Abbildung 4: Kaplan-Meier Kurven des clinical Outcome in Bezug auf ER- α (Abbildung 4a), ER- β (Abbildung 4b), PR-A (Abbildung 4c) und PR-B (Abbildung 4d) für das gesamte Überleben. PR-A und PR-B zeigen eine signifikante Verbindung mit dem Überleben (log rank: $p=0.013$ und $p=0.014$).

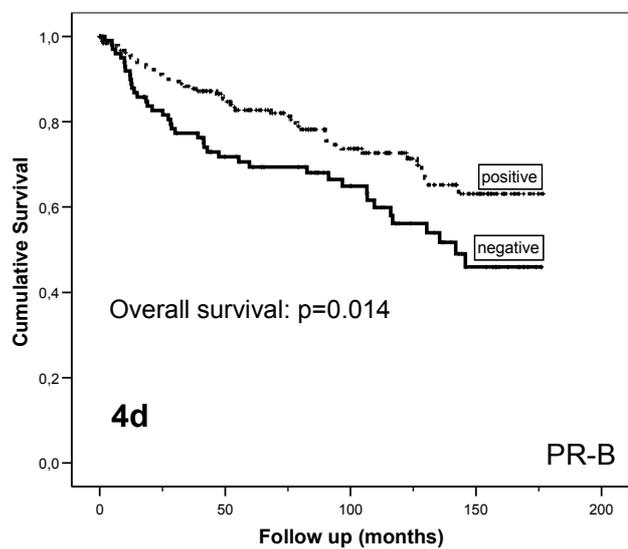
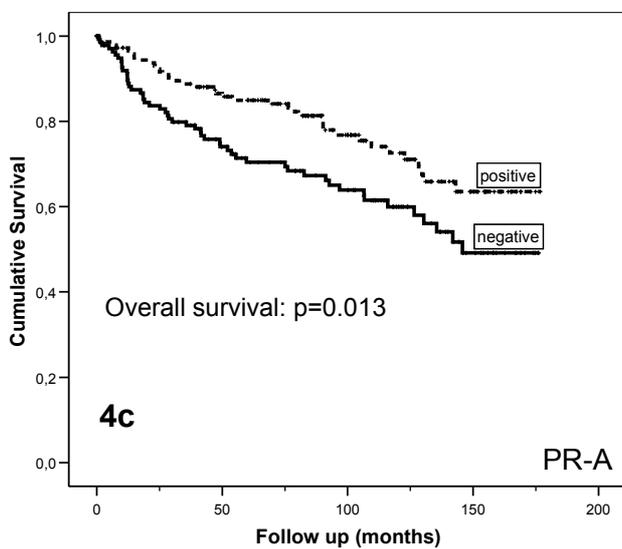
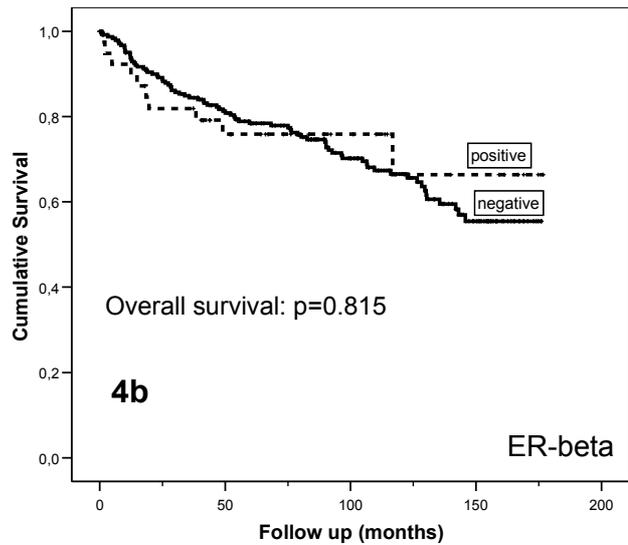
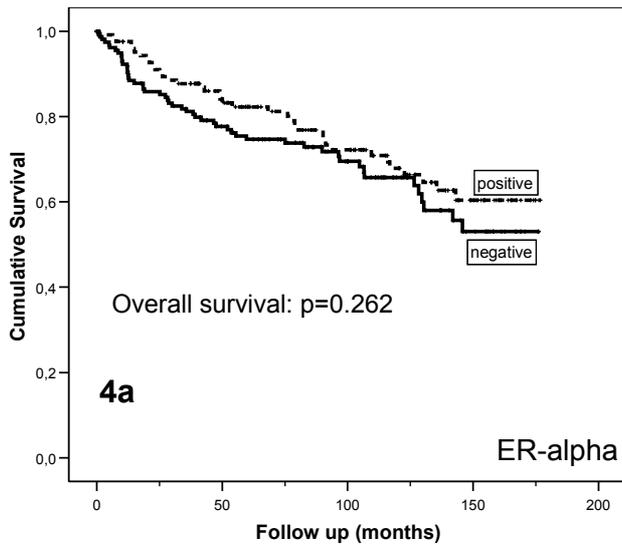
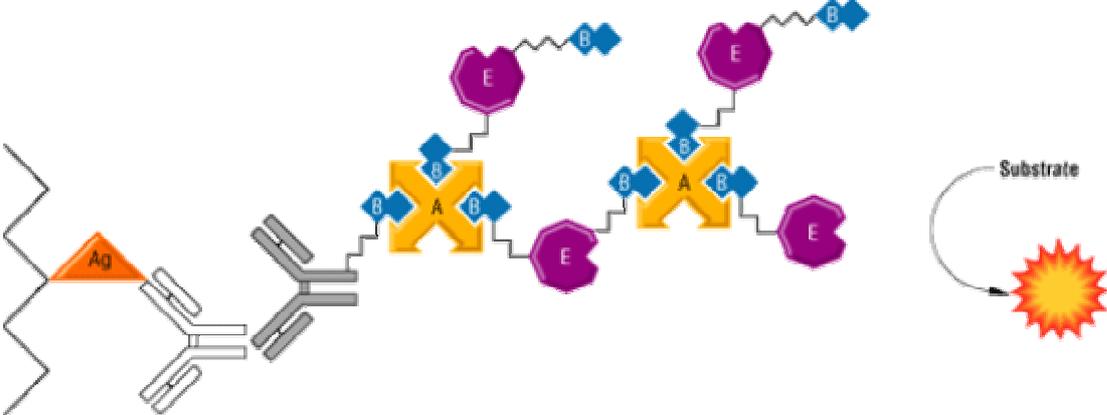


Abbildung 5: ABC Methode: aus Pierce: Avidin-Biothyn Chemistry: a Handbook; Seite 193



Name: Naim Shabani
 Geburtsdatum: 07.11.1960 in Podujeve (Kosova)
 Schulabschluss: 1966-1975 Grundschule in Podujeve
 1975-1979 Gymnasium in Podujeve
 Familienstand: Verheiratet, zwei Kinder
 Staatsangehörigkeit: Deutsch
 Studium und praktische Ausbildung:

 1979-1985 Studium der Medizin an der Universität Prishtina (Kosova)
 13.05.1985 Approbation als Arzt
 01.09.1987 Verleihung des akademischen Titels „Doktor der Medizin“
 1985-1992 Assistenzarzt am Institut für Pathologie der Medizinischen Fakultät der Universität Prishtina (Kosova) und der Universität Zagreb (Kroatien)
 Ausbildung zum Facharzt für Pathologie und Nachdiplomstudium Medizinische Zytologie
 01.05.1992 Flucht nach Deutschland
 Gastarzt am Pathologischen Institut der Universität Heidelberg (Prof. Otto)
 1993 Beschäftigung als Cytotechnologist in 130th Station, US-Army Hospital in Heidelberg (Lt. Colonel Dr. B. Harper)
 1995 Gastarzt an der Universitäts-Frauenklinik Heidelberg (Prof G.Bastert)
 1996-1998 Assistenzarzt am Pathologischen Institut des Klinikums Stralsund (Priv. Doz. Dr. E.Wolf)
 Juni 1999 Facharztprüfung für Pathologie (Ärztchammer Rostock)
 1999- 31.12.04 Assistenzarzt für Gynäkologie) und gleichzeitig als Pathologe für gynäkologische- und Mamma - Pathologie an der I. Universitätsfrauenklinik der LMU, Innenstadt, in München (Prof G. Kindermann und Prof. K.Friese)
 2000 Deutsche Approbation durch die Regierung von Oberbayern in München
 Juli 2004 Facharztprüfung für Gynäkologie und Geburtshilfe (Ärztchammer München)
 März 2005-Mai 2007 Oberarzt für Gynäkologie, Landeskrankenhaus Schärding (Österreich; Prim Dr. Th. Puchner)
 Juni 2007- bis dato Oberarzt für Gynäkologie, Kreisklinik Ebersberg (Priv. Doz. Dr. C. Höß)
 Sprachkenntnisse: Deutsch, Englisch, Albanisch, Kroatisch, Französisch
 Anschrift: Schwedenweg 34
 85560 Ebersberg
 Tel: 08092/8638839; Mobil : 0174 38 38 705

