

Aus der Klinik und Poliklinik
für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Campus Großhadern

Direktor: Prof. Dr. Sven Mahner

**Histologische und immunhistochemische Unterschiede bei endometrioiden
Endometriumkarzinomen mit und ohne koexistenter Adenomyosis uteri**

Dissertation

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

vorgelegt von

Johanna Isabell Rath

aus Essen

2019

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. Udo Jeschke
Mitberichterstatter: Prof. Dr. Reinhold Knitza
Prof. Dr. Ernst Rainer Weissenbacher

Mitbetreuung durch die
promovierte Mitarbeiterin: Dr. Linda Hertlein

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hicckel

Tag der mündlichen Prüfung: 19.12.2019

FÜR ALLE FRAUEN, DIE GRUNDLAGE FÜR DIESE ARBEIT WAREN

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	1
1 EINLEITUNG	1
1.1 Endometriumkarzinom	1
1.1.1 Definition / Namensgebung	1
1.1.2 Einteilung.....	1
1.1.3 Epidemiologie / Zahlen und Fakten	2
1.1.4 Ätiologie / Risikofaktoren	6
1.1.5 Klinik	7
1.1.6 Diagnostik	8
1.1.7 Therapie.....	8
1.1.8 Prognose.....	10
1.2 Adenomyosis uteri	11
1.2.1 Definition	11
1.2.2 Epidemiologie	12
1.2.3 Ätiologie / Risikofaktoren	12
1.2.4 Klinik	14
1.2.5 Diagnostik	15
1.2.6 Therapie.....	16
1.2.7 Prognose.....	16
2 ZIELSETZUNG	17
3 MATERIAL UND METHODEN	18
3.1 Kollektiv	18
3.2 Vergleichskollektiv	26
3.3 Ethikvotum	26
3.4 Methodik	27
3.4.1 Anfertigung des histologischen Schnittes.....	27
3.4.2 Immunhistochemische Färbeverfahren.....	28
3.4.2.1 Avidin-Biotin-Komplex (ABC)-Methode	28
3.4.2.2 ZytoChem-Plus HRP Polymer-Methode	29
3.4.2.3 Färbevorgänge	29
3.5 Statistische Methoden	34
4 ERGEBNISSE	35
4.1 Gesamtüberleben	35
4.2 T-Stadium	36
4.3 Grading	37

4.4	Estrogen Rezeptor beta	38
4.4.1	Statistische Analyse Estrogen Rezeptor beta	38
4.4.2	Immunhistochemische Färbung Estrogen Rezeptor beta	39
4.4.3	Expression in den Zellen der Adenomyosis uteri bei den Gruppen „End-CA / AU“ und „AU“	41
4.4.4	Einfluss des Estrogen Rezeptor beta auf das Überleben	42
4.5	Thomsen Friedenreich-Antigen	43
4.5.1	Statistische Analyse Thomsen Friedenreich-Antigen	43
4.5.2	Immunhistochemische Färbung Thomsen Friedenreich-Antigen	44
4.6	Glycodelin	45
4.6.1	Statistische Analyse Glycodelin	45
4.6.2	Immunhistochemische Färbung Glycodelin	46
4.7	Inhibin B	47
4.7.1	Statistische Analyse Inhibin B	47
4.7.2	Immunhistochemische Färbung Inhibin B	48
5	DISKUSSION	49
5.1	Patientenkollektiv.....	49
5.2	Gesamtüberleben	50
5.3	T-Stadium	50
5.4	Grading.....	51
5.5	Estrogen Rezeptor beta.....	52
5.6	Thomsen Friedenreich-Antigen.....	56
5.7	Glycodelin	58
5.8	Inhibin B	59
6	ZUSAMMENFASSUNG	62
	ANHANG	63
	Vorabpublikationen	63
	Ergebnistabellen	64
	MATERIAL- UND FIRMENVERZEICHNIS	66
	LITERATURVERZEICHNIS	68
	TABELLENVERZEICHNIS	80

ABBILDUNGSVERZEICHNIS	81
EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG	83
DANKSAGUNG.....	84

Abkürzungsverzeichnis

5-JÜ	5- Jahres Überlebensrate
10-JÜ	10- Jahres Überlebensrate
Ab	Antikörper
ABC	Avidin-Biotin-Complex
ACS	American Cancer Society
Ag	Antigen
Aqua dest.	Aqua destillata
AU	Adenomyosis uteri
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
°C	Grad Celsius
CA	California
Ca	Karzinom
CD	Cluster of differentiation
CD176	Thomsen Friedenreich-Antigen
CIC	Cancer Initiating Cell
CTNNB1	Catenin Beta 1
DAB	3,3 Diaminobenzidin (Chromogen)
EIC	endometriales intraepitheliales Karzinom
End-Ca	Gruppe 1: endometrioides Endometriumkarzinom
End-Ca/ AU	Gruppe 2: endometrioides Endometriumkarzinom mit Adenomyosis uteri
ER	Estrogen Rezeptor
ER α	Estrogen Rezeptor alpha
ER β	Estrogen Rezeptor beta
et al.	et alii, et aliae, et alia (und andere)
etc.	et cetera
FIGO	Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
g	Gramm
G (1-3)	Grading, Grad der Entdifferenzierung
Gal-1	Galectin-1
Gd	Glycodelin
GEKID	Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V.
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
GnRH	Gonadotropin releasing hormone / Gonadoliberin
Gp	aus der Glycodelinsequenz synthetisch hergestelltes Peptid

Abkürzungsverzeichnis

H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HER2	Human epidermal growth factor receptor 2
HRP	Horserradish peroxidase
ICD	International Classification of Diseases
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IRS	Immunoreactive Score
IVF	In vitro Fertilisation
K _a	Assoziationskonstante / Bondungskonstante
KH ₂ PO ₄	Kaliumdihydrogenphosphat
KOH	Kaliumhydroxid
L	Liter
LH	Luteinisierendes Hormon
LK	Lymphknoten
LMU München	Ludwig-Maximilians-Universität München
LVSI	lymphatic vascular space invasion
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mRNA	messenger RNA
MSI	Mikrosatteliteninstabilität
MYBL2	Myb-related protein B
Na	Natrium
Na ₂ HPO ₄	Dinatriumhydrogenphosphat
NaCl	Natriumchlorid
NSAID	Nonsteroidal anti-inflammatory drug
p-Wert	probability value
PAEP	Progesteronabhängiges Endometriumprotein
PBS	Phosphate buffered saline / Phosphat-gepufferte Salzlösung
PCO-Syndrom	Polyzystisches Ovar-Syndrom
pH	potentia Hydrogenii
Phys. End	physiologisches Endometrium in der Proliferationsphase
PIK3CA	Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Alpha
PP14	Plazentaprotein 14 = Glycodelin
PR	Progesteron Rezeptor
PTEN	Phosphatase and Tensin homolog
SEER	Surveillance, Epidemiology and End Results Program
SERM	Selektiver Estrogen-Rezeptor Modulator
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
T-Stadium (T1-4)	Tumorausdehnung
TF	Thomsen Friedenreich

Abkürzungsverzeichnis

TGF	Transforming growth factor
TMA	Tissue microarray
TNM	Tumour-Node-Metastasis
TRM	Tumorregister München
uNK	uterine Natural Killer Zellen
USA	United States of America
VEGF	Vascular endothelial growth factor
WHO	World Health Organization
ZfKD	Zentrum für Krebsregisterdaten
µm	Mikrometer

1 Einleitung

1.1 Endometriumkarzinom

1.1.1 Definition / Namensgebung

Das Uteruskarzinom ist ein Oberbegriff für maligne Neoplasien der Gebärmutter und lässt sich topographisch in zwei Untergruppen einteilen: Das Zervixkarzinom, welches von der Cervix uteri ausgeht und das Korpuskarzinom, welches im Corpus uteri seinen Ursprung hat. Da bei dem Korpuskarzinom in über 90% das Endometrium betroffen ist, wird es auch Endometriumkarzinom genannt (American Cancer Society, 2016). In vielen Quellen wird jedoch die Bezeichnung Endometriumkarzinom synonym zu Korpus- und Uteruskarzinom verwendet. In der ICD-10 Klassifikation wird unter C54 die „Bösartige Neubildung des Corpus uteri“ verschlüsselt. C54.1 bezeichnet speziell die bösartige Neubildung des Endometriums.

1.1.2 Einteilung

Bereits 1983 fand Bokhman Unterschiede hinsichtlich der biologischen Beschaffenheit, dem klinischen Verlauf und der Prognose des Endometriumkarzinoms und postulierte, dass es zwei pathogenetisch verschiedene Typen des Karzinoms geben müsse (Bokham, 1983). Lax und Kurman bestätigten 1997 ein dualistisches Modell der Endometriumkarzinome, das eine Einteilung hinsichtlich ihrer pathogenetischen Mechanismen in den endometrioiden und den serösen Subtyp des Endometriumkarzinoms zulassen (Lax und Kurman, 1997). Die WHO veröffentlichte zuletzt 2014 eine überarbeitete Version der Klassifikation für Korpuskarzinome, nach der die Endometriumkarzinome in zwei Gruppen unterteilt werden: Die sogenannten Typ-1 Karzinome sind hormonabhängig und umfassen das endometrioide Endometriumkarzinom einschließlich seiner Varianten (mit plattenepithelialer Differenzierung; villoglanduläre-, sekretorische- oder Flimmerzellvariante) sowie das muzinöse Endometriumkarzinom (Lax, 2016). Das endometrioide Endometriumkarzinom macht etwa 90% aller Endometriumkarzinome aus. Die Erstdiagnose erfolgt häufig in einem frühen Stadium, in dem das Karzinom noch auf den Uterus begrenzt ist (Creasman et al., 2006).

Die Typ-2 Karzinome umfassen das seröse sowie das klarzellige Endometriumkarzinom. Diese sind in der Regel nicht hormonsensibel (Lax, 2016). Tabelle 1 zeigt die typischen Charakteristika der zwei Gruppen.

Einleitung

	Typ 1 Endometriumkarzinome	Typ 2 Endometriumkarzinome
Subtypen	endometrioid mit Varianten - mit plattenepithelialer Differenzierung - sekretorisch - villoglandulär - Flimmerzellvariante	serös
	muzinös	klarzellig
Alter	55-65 Jahre	65-75 Jahre
Östrogen-abhängig	ja	nein
Estrogen-/ Progesteron Rezeptor	meist positive Exprimierung	meist negative oder schwach positive Exprimierung
Genmutationen	PTEN, PIK3CA, K-ras, CTNNB1, MSI	p53
Endometrium	meist hyperplastisch	meist atrophisch oder EIC (endometriales intraepitheliales Karzinom)
Stadium	niedriges Tumorstadium, meist I	höheres Tumorstadium, meist II-IV
Prognose	günstig	ungünstig

Tabelle 1: Charakteristika der Typ1- und Typ2-Endometriumkarzinome.

Eigendarstellung in Anlehnung an Berck und Hacker, 2015; Lax, 2004; Lax SF, 2014; Sherman, Bur, Kurman, 1995

1.1.3 Epidemiologie / Zahlen und Fakten

Da nicht alle Register alle Zahlen veröffentlichen, wird im Folgenden die Inzidenz und Mortalität des Endometriumkarzinoms anhand von Zahlen aus München, Deutschland und den USA dargestellt. (American Cancer Society, 2016; Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (GEKID), 2016; National Cancer Institute, 2016; Zentrum für Krebsregisterdaten (ZfKD), 2016).

Inzidenz

Das Endometriumkarzinom ist mit 4,9% aller neu diagnostizierten Karzinome in Deutschland nach dem Mammakarzinom, Lungen- /Bronchialkarzinom sowie Colon- /Rektumkarzinom das viert häufigste Malignom der Frau. In den USA liegt die Inzidenz des Endometriumkarzinoms sogar bei 7% und stellt damit ebenfalls das viert häufigste Karzinom bei Frauen dar. Abbildung 1 zeigt die Häufigkeitsverteilung verschiedener Karzinome in den USA. Mit einer geschätzten Inzidenz (für das Jahr 2016) von ca. 60.050 Fällen ist es damit das am häufigsten vorkommende Malignom des weiblichen Genitaltraktes in den Vereinigten Staaten. Durchschnittlich

Einleitung

erkranken in den USA somit 25,4 von 100.000 Frauen (altersstandardisiert) (American Cancer Society, 2016). Die Fallzahlen der Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (GEKID) sowie des Zentrums für Krebsregisterdaten (ZfKD) im Robert Koch-Institut in Berlin liegen mit erwarteten 10.800 Neuerkrankungen im Jahr 2016 und somit altersstandardisierten 16,3 Fällen pro 100.000 Frauen etwas niedriger. Dennoch ist das Endometriumkarzinom die häufigste maligne Neoplasie des Reproduktionstraktes der Frau in der westlichen Welt, wohingegen das Zervixkarzinom in den Entwicklungsländern- aufgrund der dort fehlenden Karzinomvorsorge- eine größere Inzidenz als das Endometriumkarzinom aufweist (Ferlay et al., 2015).

Die Statistiken zeigen einen stetigen Anstieg der Erkrankungsfälle mit einem Endometriumkarzinom in den Vereinigten Staaten: Bei Frauen unter 50 Jahren stiegen die Inzidenzraten seit 1988 um 1,3% pro Jahr an, bei Frauen über 50 Jahren sogar um 1,9% pro Jahr seit 2005 (American Cancer Society, 2016).

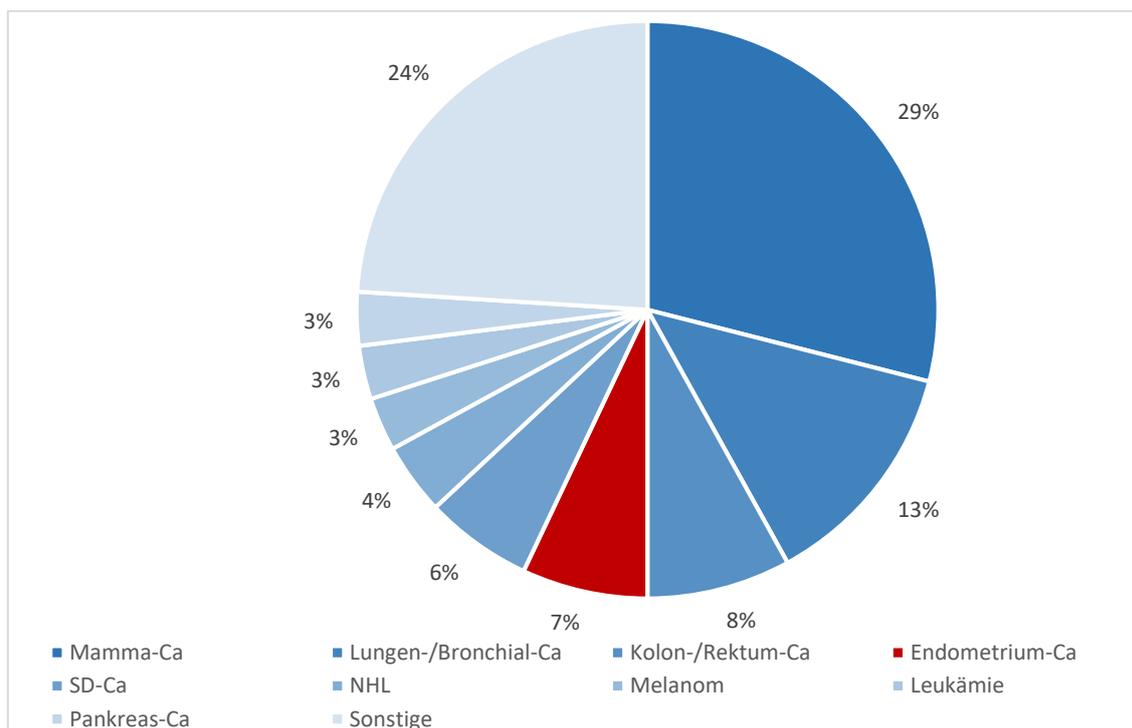


Abbildung 1: Prozentuale Anteile neu diagnostizierter Malignome in den Vereinigten Staaten (2016)

Einleitung

Die Wahrscheinlichkeit, ein malignes Korpuskarzinom zu entwickeln, ist unter anderem altersabhängig. Bei Patientinnen zwischen 0 und 49 Jahren liegt das Risiko bei 0,3%. Über ein ganzes Leben betrachtet steigt das Risiko jedoch mit 2,8% auf fast das Zehnfache an (siehe Abbildung 2) (American Cancer Society, 2016).

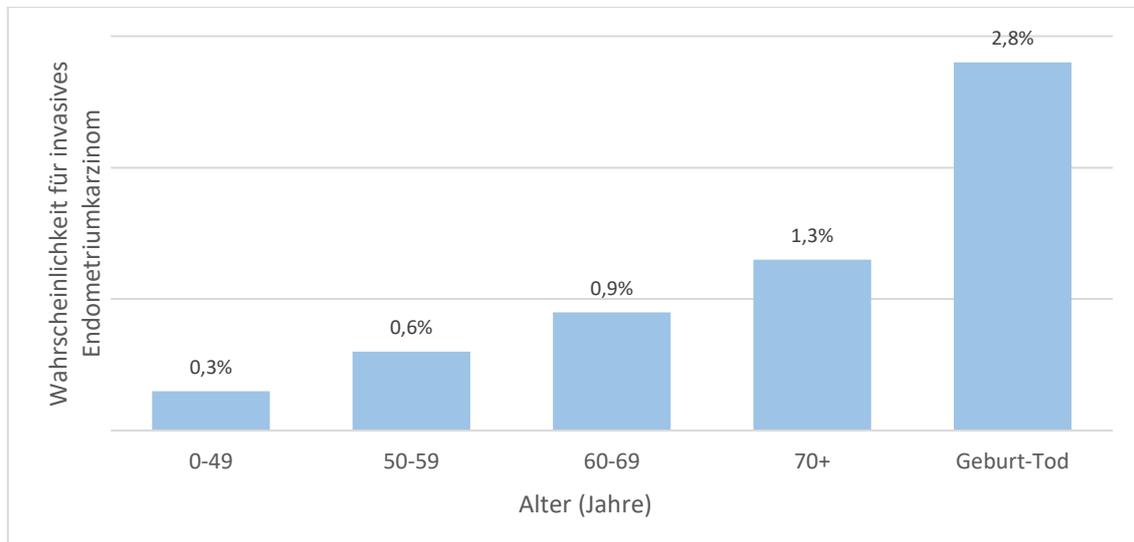


Abbildung 2: Wahrscheinlichkeit, ein invasives Endometriumkarzinom zu entwickeln in Abhängigkeit vom Alter

Einleitung

Erkrankungsalter

Das mittlere Erkrankungsalter differiert je nach Literaturangabe und Geographie. Das Tumorregister München (TRM) ermittelte ein mittleres Erkrankungsalter von 68,4 Jahren zwischen den Jahren 1998-2014. Die meisten Patientinnen im Kreis München (33,4%) erkrankten in dem Altersintervall von 65-74 Jahren. Verglichen mit den Daten des Surveillance, Epidemiology, and End Results Program (SEER) aus dem National Cancer Institute der Vereinigten Staaten zeigt sich dort ein um 5-10 Jahre früherer Erkrankungsbeginn. Das mittlere Erkrankungsalter liegt dort bei 62 Jahren; mit dem größten Anteil der Patientinnen (34,5%) zwischen 55-64 Jahren (National Cancer Institute, 2017; Tumorregister München, 2016). Die genauen Altersverteilungen sind in Abbildung 3 dargestellt.

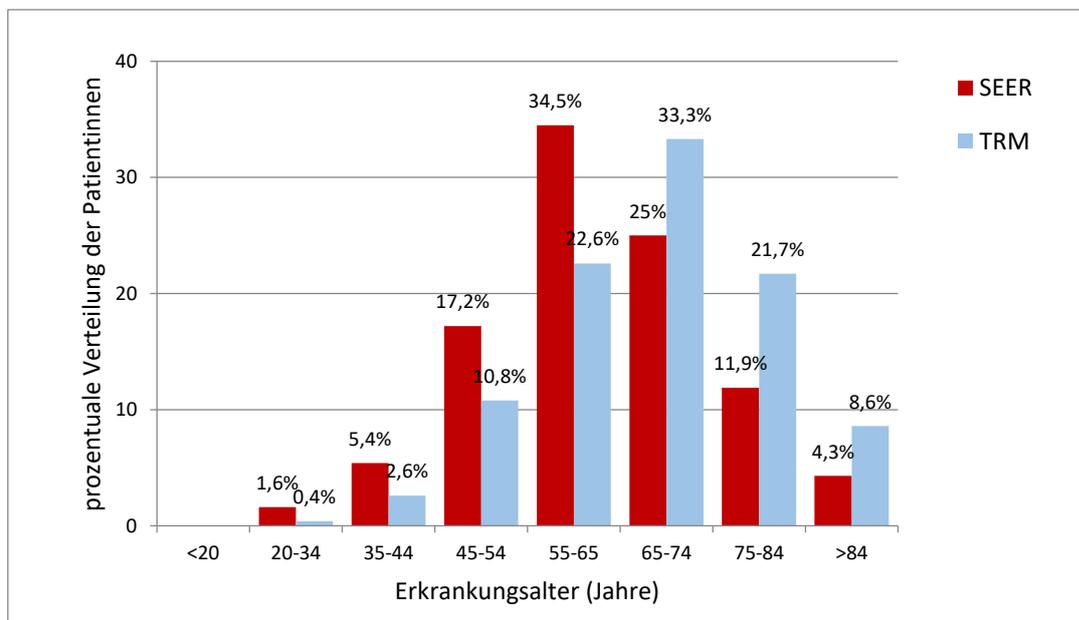


Abbildung 3: Verteilung der Patientinnen mit Endometriumkarzinom nach Erkrankungsalter. Daten aus dem Tumorregister München (TRM) verglichen mit Daten des Surveillance, Epidemiology, and End Results Program (SEER)

Mortalität

Mit 10.470 tumorassoziierten Todesfällen in den Vereinigten Staaten (geschätzt durch die ACS für das Jahr 2016) liegt das Endometriumkarzinom an sechster Stelle auf der Liste der Sterbefälle durch Malignome der Frau. Abbildung 4 zeigt die prozentuale Verteilung der Sterbefälle in den USA gemäß Karzinomtyp. Durchschnittlich versterben dort somit 4,5 von 100.000 Frauen an einem Endometriumkarzinom. Die Sterberate ist zwischen den Jahren 2004 und 2013 jährlich um ca. 1,2% gestiegen. Für Deutschland veröffentlichte die GEKID die

Einleitung

altersstandardisierte Mortalitätsrate des Endometriumkarzinoms mit 3,1/100.000 Frauen im Jahr 2013.

Die meisten Patientinnen mit Endometriumkarzinom in den USA versterben zwischen 65 und 74 Jahren; mit einem mittleren Sterbealter von 70 Jahren. Das mittlere Sterbealter im Kreis München lag mit 80,2 Jahren deutlich höher. Dieser Altersunterschied von 10 Jahren ist konsistent mit dem ebenfalls späteren Erkrankungsalter im Kreis München (American Cancer Society, 2016; GEKID, 2017; National Cancer Institute, 2017; TRM, 2016).

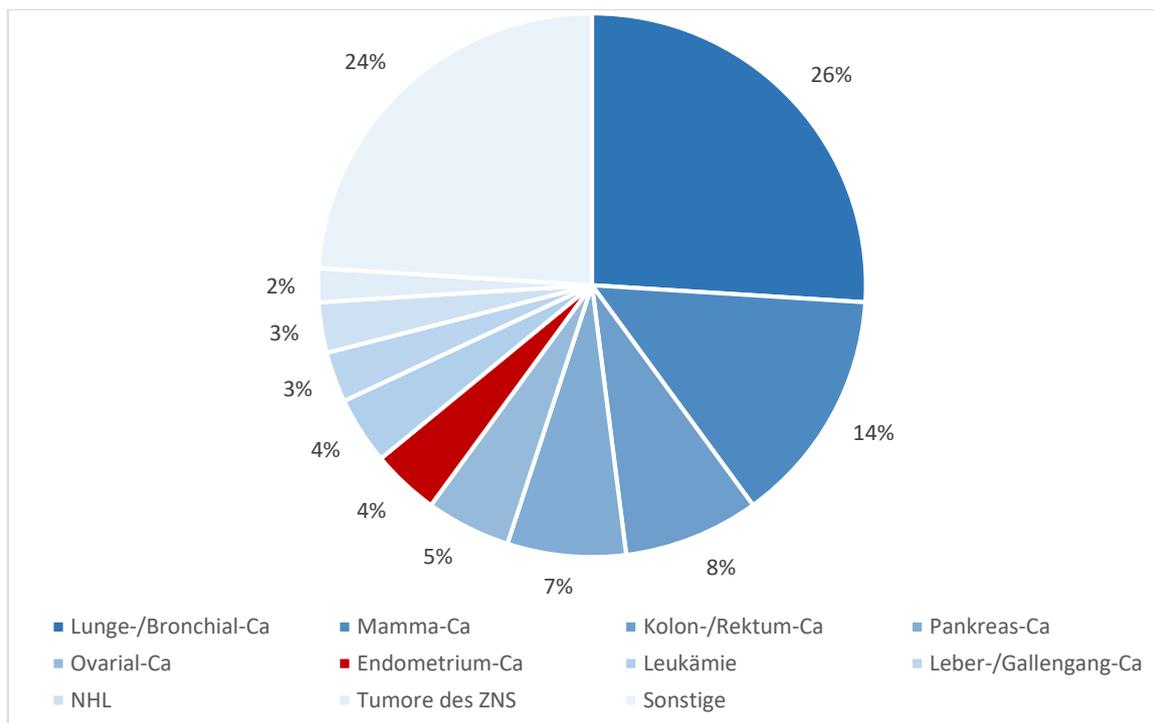


Abbildung 4: Prozentualer Anteil der tumorassoziierten Sterbefälle in den Vereinigten Staaten (2016)

1.1.4 Ätiologie / Risikofaktoren

Das Endometriumkarzinom tritt häufig bei Frauen mit erhöhten Estrogenspiegeln auf. Diese können durch vermehrte endogene Produktion oder exogene Zufuhr (medikamentöse Zufuhr) ansteigen. Konditionen, die zu einer solch erhöhten Estrogenexposition führen, werden somit als Risikofaktoren für die Entwicklung eines Endometriumkarzinoms eingestuft. Hierzu zählen sowohl Volkskrankheiten wie Adipositas und Diabetes als auch seltenerer Krankheiten wie Estrogen-sezernierende Tumore oder das PCO-Syndrom. Ebenfalls können Medikamente, wie eine reine Estrogensersatztherapie oder Tamoxifen-Therapie bei Mammakarzinom, mitverantwortlich sein. Eine frühe Menarche oder späte Menopause sowie Nulliparität können

durch die lang andauernde Estrogenproduktion auch an der Entstehung des Endometriumkarzinoms beteiligt sein (American Cancer Society, 2016; Creasman, 1997; Parazzini, LaVecchia, Bocciolone, Franceschi, 1991).

Dem entgegen wirken sich Faktoren, die die Estrogenexposition senken oder die Progesteronlevel erhöhen, mindernd auf das Risiko an einem Endometriumkarzinom zu erkranken aus. Hierzu zählen unter anderem Schwangerschaften, orale Kontrazeptiva sowie Intrauterinpressare und körperliche Aktivität (American Cancer Society, 2016; Parazzini et al., 1991).

1.1.5 Klinik

Das Endometriumkarzinom ist besonders bei postmenopausalen Frauen durch abnorme Blutungen aus der Gebärmutter gekennzeichnet. Dieses Symptom tritt meistens in frühen Phasen der Karzinomentstehung auf und gehört zu den häufigsten Krankheitsanzeichen. Es wird bei etwa 80-90% der Patientinnen beobachtet (American Cancer Society, 2016; Berek und Hacker, 2015, S. 392; Chauhan, Dhull, Singh, 2008). Bei prämenopausalen Frauen können Menorrhagien oder Metrorrhagie im Rahmen eines Endometriumkarzinoms beobachtet werden (Berek und Hacker, 2015, S. 392). In seltenen Fällen, ungefähr 5-10%, treten keine Blutungen auf (Khunnarong J, Tangjitgamol S, Srijaipracharoen S, 2016; Smith-Bindman R et al., 1998).

Späte Symptome können Schmerzen bei der Miktion sowie beim Geschlechtsverkehr sein oder allgemein diffuse Schmerzen oder Raumforderungen im Becken darstellen (American Cancer Society, 2016; Berek und Hacker, 2015, S. 392). Gänzlich asymptomatisch zeigen sich laut Studien nur etwa 0,4-0,6% der Patientinnen (Koss, Schreiber, Oberlander, Moukhtar, Levine, Moussouris, 1981; Ouldamer, Rossard, Arbion, Marret, Body, 2014).

Diverse Studien berichten über eine Koexistenz von Endometriumkarzinom und anderen gynäkologischen Pathologien. Das Leiomyom ist mit ungefähr 10% (Zimmermann, Bernuit, Gerlinger, Schaefers, Gebbert, 2012) bis 40% (Khunnarong et al., 2016) am häufigsten vertreten. Die meisten synchronen Karzinome stellen mit 5% die epithelialen Ovarialkarzinome dar (Zaino, Whitney, Brady, DeGeest, Burger, Buller, 2001).

1.1.6 Diagnostik

Die Verdachtsdiagnose eines Endometriumkarzinoms wird bei den meisten Frauen aufgrund unregelmäßiger vaginaler Blutungen gestellt (Colombo et al., 2011).

Seit dem verbreiteten Einsatz des transvaginalen Ultraschalls in der weiterführenden gynäkologischen Diagnostik und darauffolgender Durchführung von Gewebeprobeentnahmen wird das endometrioides Endometriumkarzinom inzwischen auch häufiger bei asymptomatischen Frauen diagnostiziert. Große Studien konnten sogar zeigen, dass der transvaginale Ultraschall ein geeignetes Mittel zum Screening auf ein Endometriumkarzinom bei beschwerdefreien Patientinnen sein könnte (Jacobs et al., 2011).

Eine Gewebeprobe des Endometriums sollte obligatorisch bei postmenopausalen Patientinnen mit vaginalen Blutungen entnommen werden (Amant, Moerman, Neven, Timmerman, Van Limbergen, Vergote, 2005). Dazu ist eine Gewinnung des Gewebes durch Ausschabung des Korpus uteri mit zeitgleicher Hysteroskopie zu empfehlen. Der Benefit einer Gewebeprobeentnahme bei Patientinnen ohne Blutungen ist jedoch fraglich (Barak et al., 2013). Histopathologisch weist das Endometriumkarzinom typischerweise eine glanduläre oder villoglanduläre Architektur auf und besteht aus mehrschichtigem Zylinderepithel, welches sich vielfach komplex aufzweigt (Kurman, Carcangiu, Herrington, Young, 2014, S. 128). Mit seiner Drüsenstruktur ähnelt es dem proliferierenden Endometrium (Klöppel, Kreipe, Remmele, 2013, S. 359). Der häufigste diagnostizierte histologische Subtyp ist das endometrioides Endometriumkarzinom (Gizzo et al., 2016).

1.1.7 Therapie

Therapie der Wahl für die Behandlung des Endometriumkarzinoms ist die totale Hysterektomie mit bilateraler Salpingo-Oophorektomie. Heutzutage kann durch die Fortschritte auf dem Gebiet der Laparoskopie der Eingriff zunehmend minimal-invasiv durchgeführt werden und auf eine Laparotomie verzichtet werden. Die Adnexe sollten aufgrund möglicher mikroskopisch kleiner Metastasen und erhöhtem Risiko für ein Ovarialkarzinom mitentfernt werden. Die chirurgische Abklärung der Lymphknoten ist aktuell noch Thema der Forschung. Fraglich ist, ob die Lymphknoten nur als optionales Prozedere bei Patienten mit höherem Tumorstadium oder zusätzlicher Risikofaktoren abgeklärt werden sollen oder bei allen Patientinnen (Berek und Hacker, 2015, S. 403; Khunnarong et al., 2016). Größere Studien zeigen ein Überlebensbenefit nach Entfernung der Lymphknoten (Gupta, McGunigal, Prasad-Hayes, Kalir, Liu, 2017). Die

Einleitung

aktuelle Leitlinie empfiehlt – vereinfacht betrachtet – die Entfernung aller suspekten oder palpatorisch bzw. makroskopisch vergrößerten Lymphknoten. Eine systematische Lymphadenektomie sollte lediglich bei einem pT1a, G3 Karzinom durchgeführt werden oder bei Karzinomen mit höheren T- und G-Stadien, wenn eine makroskopische Tumorfreiheit möglich erscheint (Leitlinienprogramm Onkologie, 2018). Die meisten Patientinnen präsentieren sich mit einem Karzinom in einem frühen Stadium und können durch alleinige chirurgische Intervention therapiert werden. Dennoch versterben noch immer einige Patientinnen jährlich an der Diagnose Endometriumkarzinom, so dass eine adjuvante Therapie in Abhängigkeit verschiedener Risikofaktoren empfohlen wird. Zu diesen Risikofaktoren zählen das Alter der Patienten, Tumorstadium, Histologie, Grading, Tiefe der myometranen und lymphovaskuläre Invasion (Morice, Leary, Creutzberg, Abu-Rustum, Darai, 2015). Patientinnen mit einem Grad 1 oder 2 endometrioiden Endometriumkarzinom mit $\geq 50\%$ myometraner Invasion oder Grad 3 Karzinom mit $< 50\%$ myometraner Invasion profitieren von einer vaginalen Brachytherapie als adjuvante Therapie. Bei Patientinnen mit einem Grad 3 Karzinom und $\geq 50\%$ myometraner Invasion oder Invasion der Zervix wird eine adjuvante externe Bestrahlung angeraten (Meyer et al., 2015). Gupta et al. bestätigen in ihrer Studie 2017 die besseren Überlebensraten nach Verbesserung der lokalen Therapie durch adjuvante Radiotherapie. Die Ergebnisse unterstützen besonders die Datenlage bezüglich Radiotherapie für Patientinnen mit Stadium 1 Endometriumkarzinom und $\geq 50\%$ myometraner Invasion und/oder Grad 3 endometrioide Karzinome. Die deutsche Leitlinie empfiehlt keine adjuvante Strahlentherapie bei T1a, G1 oder G2 endometrioiden Endometriumkarzinomen. Bei G3-Karzinomen oder ab einem pT1b Stadium kann/ sollte eine vaginale Brachytherapie zur Senkung eines Rezidivrisikos im Bereich der Vagina erfolgen. Endometrioide Endometriumkarzinome der Stadien III und IVA können neben einer Chemotherapie mit Carboplatin und Paclitaxel eine adjuvante externe Beckenbestrahlung erhalten. Die adjuvante Chemotherapie wird erst ab einem Karzinom im Stadium pT3 und/ oder pN1 empfohlen (Leitlinienprogramm Onkologie, S3-Leitlinie Endometriumkarzinom, Version 0,1, Dez. 2017). Faktoren, die mit einer Verbesserung des Überlebens einhergingen, waren adjuvante Radiotherapie, Lymphknotendissektion, Alter < 60 , niedriger Comorbidity-score (Gupta et al., 2017). Bei Inoperabilität oder Tumorrezidiv ist eine Kombinationschemotherapie, eines Platinpräparates mit Paclitaxel, zu diskutieren. Eine Hormontherapie mit Medroxyprogesteron kann im palliativen Setting bei positiver Hormonrezeptorexpression angedacht werden (Haag, Hanhart, Müller, 2012/2013, S. 68).

1.1.8 Prognose

Das endometrioide Endometriumkarzinom ist in mehr als 75% auf die Gebärmutter begrenzt (Gizzo et al., 2016) und hat typischerweise eine gute Prognose (Giordano et al., 2012; Prat, 2004). Die aktuellen Zahlen der American Cancer Society bestätigen dies mit einer durchschnittlichen 5-Jahres Überlebensrate (5-JÜ) von 82% bzw. einer 10-Jahres Überlebensrate von 79%. Dennoch sollte hierbei das Stadium und die Ausbreitung des Tumors beachtet werden, da diese Faktoren die 5-Jahres Überlebensrate erheblich modifizieren. Das bei Diagnosestellung lokal begrenzte Karzinom hat mit 95% eine bessere, das regional begrenzte Karzinom jedoch mit 68% eine schlechtere und ein fernmetastasiertes Karzinom mit 17% eine deutlich schlechtere Prognose verglichen mit der durchschnittlichen 5-Jahres Überlebensrate des Endometriumkarzinoms (siehe Abbildung 5) (American Cancer Society, 2016).

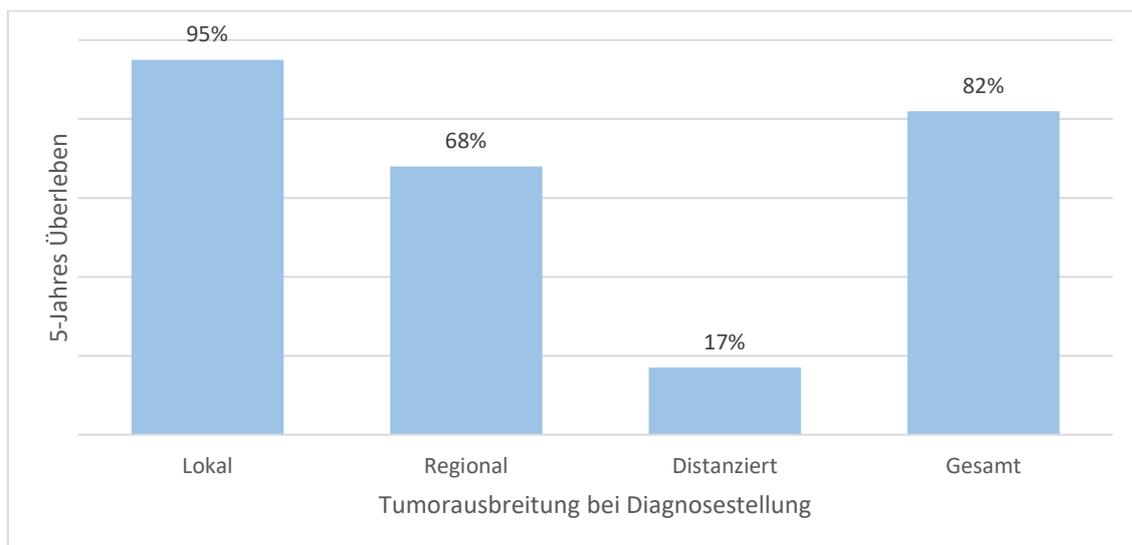


Abbildung 5: 5-Jahres Überleben in Abhängigkeit der Tumorausbreitung bei Diagnosestellung

Lokal: Ein Karzinom, das gänzlich auf das Ursprungsorgan begrenzt ist.

Regional: Ein Karzinom, das sich über die Grenzen des Ursprungsorgans hinaus in die Umgebung ausbreitet und/oder regionale Lymphknoten befällt.

Distanziert= fernmetastasiert: Ein Karzinom, das sich fern von dem Ursprungsorgan durch direkte Ausbreitung oder diskontinuierliche Metastasen in distanzierte Organe, Gewebe oder Lymphknoten ausgeweitet hat.

Die meisten Endometriumkarzinome werden in einem frühen Stadium diagnostiziert, in dem das Karzinom noch auf die Gebärmutter beschränkt ist. In den häufigsten Fällen kann ein Tumor in diesem Stadium mittels chirurgischer Maßnahmen, Bestrahlung, Hormon- oder

Chemotherapie kurativ behandelt werden. Dennoch entwickeln ca. 15-20% der Patientinnen im Verlauf der Erkrankung Metastasen (Bidus et al., 2006).

Obwohl es bei lokalisierten, auf das Organ begrenzten Endometriumkarzinomen erhebliche Fortschritte bezüglich der Therapie gibt, fehlt bei einem metastasierten Endometriumkarzinom weiterhin ein kurativer Ansatz. Diese Patientinnen, genauso wie Patientinnen mit Karzinom in einem fortgeschrittenen Stadium oder mit Tumorrezidiv, haben aufgrund der limitierten Therapiemöglichkeiten eine schlechte Prognose (Hill und Dizon, 2012; Temkin und Fleming, 2009).

1.2 Adenomyosis uteri

1.2.1 Definition

Als Adenomyosis uteri bezeichnete man früher die Invasion des Endometriums in das Myometrium (Bird, McElin, Malo-Estrella, 1972). Heutzutage wird die Adenomyosis uteri jedoch zunächst einmal als gutartige Erkrankung gesehen, die durch die Gegenwart von ektopen endometrioiden Drüsen und Stroma tief im umgebenden Myometrium definiert ist (Ferenczy, 1998; Hanley, Dustin, Stoler, Atkins, 2010). Obwohl die Adenomyosis uteri inzwischen als eigene Krankheitsentität anerkannt und von der Endometriose abzugrenzen ist (Benagiano, Habiba, Brosens, 2012), wird sie in der klinischen Praxis als Endometriose des Uterus oder auch Endometriosis genitalis interna bezeichnet.

Klinisch muss die Adenomyosis uteri von der Endometriose und dem Adenomyom abgegrenzt werden.

Eine myometrane Endometriose unterscheidet sich von der Adenomyosis uteri dadurch, dass endometriale Drüsen mit umgebendem Stroma in den äußeren myometrane Schichten nahe dem Parametrium lokalisiert sind, ohne in den inneren Bereich des Myometriums vorzudringen.

Das Adenomyom unterscheidet sich von der Adenomyosis uteri dadurch, dass es eine umschriebene, klar abgegrenzte, Raumforderung, bestehend aus knotigen Aggregaten glatter Muskelzellen, endometrialen Drüsen und endometrialem Stroma, ist. Es kann sowohl im Myometrium als auch im Endometrium entstehen und als Polyp wachsen (Bergeron, Amant, Ferenczy, 2006).

1.2.2 Epidemiologie

Die Inzidenz der Adenomyosis uteri beträgt ungefähr 15-20% während der sexuellen Reifeperiode (Zaloudek und Norris, 1989, Park et al. 2016). Die Prävalenz ist nicht sicher anzugeben, da eine Adenomyosis uteri nur histologisch im kompletten Präparat, nach Hysterektomie, sicher diagnostiziert werden kann (Park et al., 2016).

Die meisten Fälle von Adenomyosis uteri treten bei mehrgebärenden Frauen zwischen dem 40. und 50. Lebensjahr auf (Bergeron et al., 2006). Andere Quellen beschreiben jedoch das Auftreten während dem 50. und 60. Lebensjahr als typisch (Bergeron, 2006; Ferenczy, 1998). Viele weitere Studien belegen auch das Vorkommen einer Adenomyosis uteri in jüngeren Frauen mit symptomatischen Beschwerden (Dietrich, 2010; Kissler et. al, 2008; Kunz, Herbertz, Beil, Huppert, Leyendecker, 2007; de Souza, Brosens, Schwieso, Paraschos, Winston, 1995).

1.2.3 Ätiologie / Risikofaktoren

Es gibt diverse Theorieansätze zur Entstehung der Adenomyosis uteri.

1. Die Adenomyosis uteri entsteht aufgrund von Invagination der endometrioiden Mukosa zwischen die Muskelbündel des Myometriums (Musa, Frey, Im, Chekmareva, Ellenson, Holcomb, 2012). Diese These wird dadurch unterstützt, dass das Endometrium weder eine Submukosa, noch eine Basalmembran hat (Benagiano et al., 2012) und das Endometrium somit direkt auf, beziehungsweise an dem Myometrium liegt (Bergeron et al., 2006).
2. Endometrioides Gewebe gelangt über das intramyometrane lymphatische System in das Myometrium (Musa F, Frey MK, Im HB, Chekmareva M, Ellenson LH, Holcomb K, 2012).
3. Die Adenomyosis uteri resultiert aus einer de novo Metaplasie, welche sich aus ektopem intramyometrane Endometriumsgewebe bildet (Musa et al., 2012).
Diese Theorie wird durch den gemeinsamen embryologischen Ursprung des Endometriums und des Myometriums aus dem pluripotenten Müller'schen Gewebe (epitheliales- und mesenchymales Gewebe) unterstützt (Bergeron et al., 2006).
4. In Phasen der Regeneration, Heilung und Reepithelialisierung ist es dem Endometrium möglich, in prädisponiertes Myometrium oder traumatisierte endometriale-myometriale Grenzonen einzuwandern.

Einleitung

Dieses Phänomen, beziehungsweise dieser Prozess, läuft dabei stufenweise ab: Zunächst kommt es zur Zerstörung der normalen Grenze zwischen Endometrium und Myometrium. Danach folgt die Invasion endometrialer Drüsen in das Myometrium und als Folge dessen die Entstehung ektooper intramyometrialer Drüsen. Abschließend kommt es zu myometrane Hypertrophie und Hyperplasie (Benagiano et al., 2012; Vercellini, Viganò, Somigliana, Daguati, Abbiati, Fedele, 2006).

Eine Unterbrechung des Myometriums muss jedoch nicht unbedingt mit dem Auftreten einer Adenomyosis uteri assoziiert sein (Mehasseb, Bell, Habiba, 2010).

5. Durch Verlust von Kohäsionskräften im Gewebe ist es der endometrialen Mukosa möglich in das Myometrium einzuwandern. Der Verlust dieser Kohäsionen könnte durch bestimmte Enzyme getriggert sein (Devlieger, D'Hooghe, Timmerman, 2003; Uduwela, Perera, Aiquig, Fraser, 2000).
6. Erhöhte Estrogenlevel (vor allem lokal) spielen ebenfalls eine Rolle bei der Entstehung der Adenomyosis uteri (Kitawaki, 2006). Durch die Entdeckung der Überexpression von Estrogen-Rezeptoren und des Apoptose-Suppressor-Gen Produktes, bcl-2, in adenomyotischen Foki (verglichen mit dem umgebenden normalen Myometrium) wird diese Theorie gestützt (Musa et al., 2012; Ueki, Kumagai, Yamashita, Li, Ueki, Otsuki, 2004).

Desweiteren erklärt dieser Ansatz auch die häufige Koexistenz der Adenomyosis uteri mit anderen estrogenabhängigen Krankheiten (Musa et al., 2012).

Einige Studien konnten eine Assoziation zwischen Tamoxifenbehandlung oder einem selektiven Estrogenrezeptormodulator (SERM) in der Vorgeschichte und der Entstehung einer Adenomyosis uteri zeigen. Dies lässt ebenfalls auf ein hormonelles Ungleichgewicht als Ursache für eine Adenomyosis schließen (Greaves und White, 2006).

Insgesamt beeinflussen verschiedene weitere Faktoren, wie familiäre Disposition (Arnold, Meck, Simon, 1995), Wachstums-, Entzündungs- und Immunfaktoren (Ota, Igarashi, Hatazawa, Tanaka, 1998; Wang, Li, Yang, Du, Cui, Wen, 2009) und Angiogenese (Huang et al., 2014; Zhou et al., 2012), die Ätiologie der Adenomyosis uteri.

1.2.4 Klinik

Die Klinik der Adenomyosis uteri stellt sich sehr vielfältig dar und reicht von asymptomatischen Verläufen bis zu starken Beschwerden. In Abbildung 6 ist die prozentuale Verteilung der Symptome dargestellt.

Ein Drittel der Patientinnen hat keine Beschwerden, während die anderen zwei Drittel der Patientinnen häufig unter Menorrhagie, Dysmenorrhoe, Metrorrhagie und gelegentlich unter Dyspareunie und Subfertilität leiden (Bergeron et al., 2006; Farquhar und Brosens, 2006).

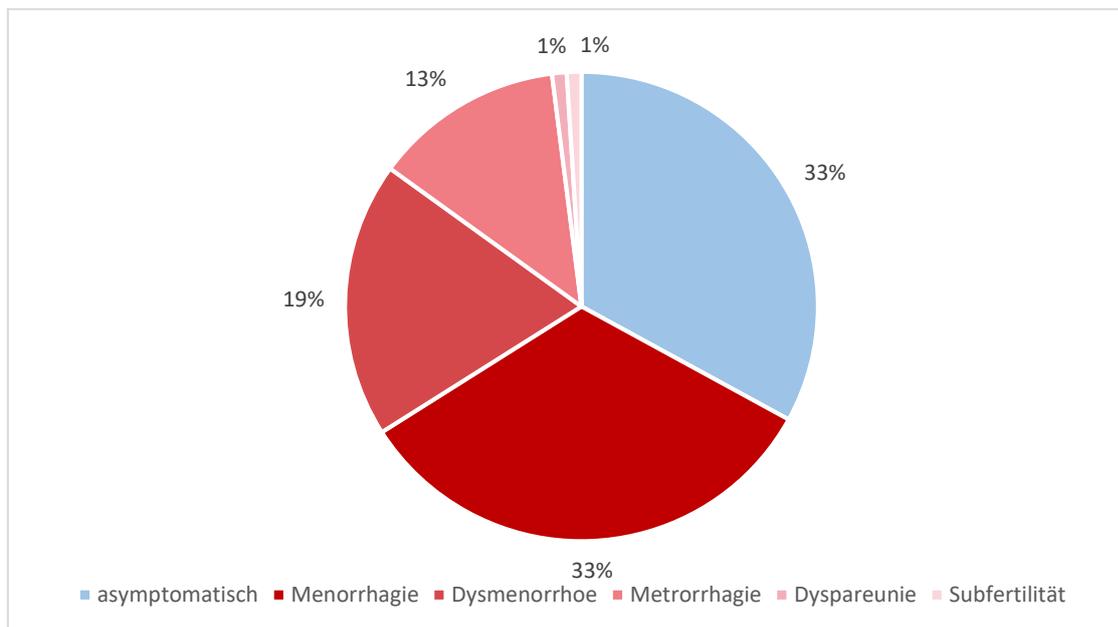


Abbildung 6: Klinik der Adenomyosis uteri

Studien konnten zeigen, dass die Häufigkeit und die Schwere der Symptomatik mit dem Tiefenausmaß der Adenomyosis uteri korreliert (Benson und Sneed, 1958; Nishida, 1991). Jedoch werden die Symptome nicht immer durch die Adenomyosis per se verursacht, sondern können auch aufgrund der vielen assoziierten Pathologien entstehen (Nikkanen und Punnonen, 1980). In 80% der Hysterektomiepräparate mit Adenomyosis uteri findet sich eine zusätzliche pathologische Veränderung (Tabelle 2, nach Ferenczy, 1998).

Zusatzbefund bei Ademyosis uteri	
Leiomyom	35-55%
Pelvine Endometriose	6-20%
Endometriale Hyperplasie mit/ohne Atypien	10%
Endometriumpolyp	2,3%
Adeno-Ca	1,4%

Tabelle 2: Nebenfunde bei Patientinnen mit Adenomyosis uteri.

1.2.5 Diagnostik

Die Adenomyosis uteri lässt sich nur nach Hysterektomie mittels histologischer Untersuchung sicher diagnostizieren. Generell wird die Diagnose der Adenomyosis uteri gesichert, wenn endometriale Drüsen im Myometrium identifiziert werden können (Benagiano et al., 2012). Jedoch kann das Ausmaß der Adenomyosis uteri von einer einfachen Verdickung der Junktionalzone bis hin zu mehreren diffusen oder nodulären Läsionen, die über die gesamte Uteruswand verteilt sind, differieren (Gordts, Brosens, Fusi, Benagiano, Brosens, 2008). Da es keine einheitliche histologische Definition der Adenomyosis uteri gibt, zeigt sich eine große Diskrepanz in den Diagnoseraten (10-80%) in verschiedenen Einrichtungen (Seidmann und Kjerulff, 1996).

Makroskopisch

Die Adenomyosis uteri verursacht eine globuläre und zystische Vergrößerung des Myometriums und somit in Teilbereichen auch eine diffuse Vergrößerung des Uterus selbst (Bird et al., 1972). Manche Zysten sind mit Extravasaten, hämolysierten Erythrozyten und Siderophagen gefüllt (Ascher-Walsh, Tu, Du, Blanco, 2003).

Mikroskopisch

Gewöhnlich wird die Darstellung von Endometriumgewebe im Myometrium, welches mehr als ein x100 mikroskopisches Sichtfeld von der endomyometrane Grenzzone entfernt ist, als diagnostisches Kriterium für Adenomyosis uteri aufgeführt. Diese Entfernung wurde beliebig gewählt, sodass man in der Literatur auch andere Definitionen findet (Clement und Young, 1993). Die Adenomyosis uteri ist willkürlich im Myometrium verteilt und zeigt sich sowohl als diffuse, wie auch fokale Areale, ektooper, nicht-neoplastischer endometrialer Drüsen und Stroma mit einem unklar begrenzten Randsaum. Das ektope Endometrium muss dabei hinter der „letzten“ Drüse der Basalis lokalisiert sein. Es ist rundherum von Bündeln hypertropher glatter Muskelzellen umgeben (Bergeron et al., 2006; Bird et al., 1972). Neben der myometrialen Hypertrophie induziert die Adenomyosis auch eine myometriale Inflammation (Park et al., 2016). Adenomyotische Drüsen und Stroma sind meistens vom proliferativen Typ, können aber auch sekretorische und menstruelle Veränderungen zeigen (Bergeron et al., 2006).

1.2.6 Therapie

Eine definitive Behandlung wird letztendlich nur durch eine Hysterektomie erreicht. Dies ist die Methode der Wahl bei Patientinnen mit Symptomen und abgeschlossener Familienplanung. Rein symptomatisch wird zunächst mit NSAIDs behandelt (Streuli, Dubuisson, Santulli, de Ziegler, Batteux, Chapron, 2014). Das antiestrogene Danazol sowie GnRH-Analoga induzieren zwar eine Suppression der Adenomyosis uteri, können aber aufgrund von schweren Nebenwirkungen nur über einen begrenzten Zeitraum gegeben werden (Bergeron et al., 2006). Weitere Therapieoptionen, die längerfristig verabreicht werden können, stellen Gestagene, hormonelle Antikonzeptiva und intrauterine Gestagen-freisetzende Systeme dar (S2k-Leitlinie: Diagnostik und Therapie der Endometriose, 2013). Dabei beruht der therapeutische Effekt auf der Induktion einer Amenorrhoe. Antikonzeptiva (Monophasenpräparate) und Gestagene sollten dafür kontinuierlich eingenommen werden (Vercellini, Frontino, De Giorgi, Pietropaolo, Pasin, Crosignani, 2003). Es gibt nur wenige randomisierte kontrollierte Studien zum pharmakologischen Management der Adenomyosis und die Informationen dieser Studien sind noch insuffizient (Streuli et al., 2014). Nicht- oder weniger invasive Therapieoptionen bleiben somit Objekt der Forschung.

1.2.7 Prognose

Frühere Studien nahmen an, dass sich eine Adenomyosis uteri maligne verändern kann und somit eine Vorstufe zum Adenokarzinom darstelle (Kucera, Hejda, Dankovcik, Valha, Dudas, Feyereisl, 2011; Mittal und Barwick, 1993).

Andere Studien haben jedoch einige Fälle mit Adenomyosis untersucht und keinen Anhalt für eine histologisch maligne Transformation im Epithel der adenomyotischen Drüsen gefunden (Hayata und Kawashima, 1987). Eine maligne Transformation einer Adenomyosis ist also selten (Matsuo et al., 2016). Dennoch gibt es Hinweise für erhöhte Invasivität bei endometrialen Zellen aus einer Endometriose und Adenomyosis heraus, verglichen mit endometrialen Zellen aus physiologischem Endometrium (Brosens, Brosens, Benagiano, 2012; Gaetje, Kotzian, Herrmann, Baumann, Starzinski-Powitz, 1995).

2 Zielsetzung

Das Endometriumkarzinom ist das häufigste Malignom des weiblichen Genitaltraktes sowie das viert häufigste Karzinom der Frau. Jedes Jahr erkranken mehr als 10.000 Frauen in Deutschland an dieser Diagnose. Trotz einer durchschnittlichen 5-JÜ-Rate von 85%, verstarben im Jahr 2015 noch immer über 2000 Frauen an dieser Krankheit und die Zahlen steigen stetig (ACS, 2016; GEKID, 2017; ZfkD, 2017). Es ist also von großem Interesse, die Krankheit bis ins Detail zu verstehen und die Prognose, im Rahmen der wissenschaftlichen Möglichkeiten, zu verbessern. Frühere Studien haben bereits Unterschiede hinsichtlich des Überlebens zwischen Patientinnen mit endometrioidem Endometriumkarzinom und Patientinnen mit endometrioidem Endometriumkarzinom und zeitgleicher Adenomyosis uteri beschrieben. In dieser Studie ist das Patientinnenkollektiv vorrangig in diese zwei Gruppen unterteilt. Gruppe 1 schließt Patientinnen mit reinem endometrioidem Endometriumkarzinom („End-Ca“) ein, Gruppe 2 setzt sich aus Patientinnen mit endometrioidem Endometriumkarzinom und koexistenter Adenomyosis uteri („End-Ca/ AU“) zusammen. Es wird vermutet, dass Patientinnen mit zusätzlicher Pathologie, wie der Adenomyosis uteri, eine bessere Prognose haben, den Trend zu einem geringeren Grading aufweisen und zu oberflächlicheren myometranen Invasion tendieren (Hall, Young, Nelson, 1984; Jacques und Lawrence, 1990; Mittal und Barwick, 1993). Musa et al. untersuchten 2012 in einer großen Studie 2346 Hysterektomiepräparate. Hierbei fanden sie in 66% der Präparate mit Adenokarzinom des Endometriums eine simultane Adenomyosis uteri. Die Prävalenz der Adenomyosis uteri war vor allem bei Patientinnen mit Endometriumkarzinom vom endometrioidem Typ, verglichen mit anderen histologischen Subtypen, signifikant erhöht (Musa et al., 2012).

Die häufige Koexistenz dieser beiden Pathologien lässt auf einen gemeinsamen Risikofaktor schließen oder die Möglichkeit, dass der eine Zustand die Entstehung des anderen begünstigt (Musa et al., 2012). Der Mechanismus, durch welchen die Adenomyosis in die Tumorprogression eingreift, bleibt bis jetzt jedoch ungeklärt (Gizzo et al., 2016). Diese Studie zielt nun darauf ab, die beiden Gruppen („End-Ca“ und „End-Ca/ AU“) hinsichtlich ihrer Prognose sowie histochemischer Parameter zu analysieren und die Gemeinsamkeiten oder Unterschiede darzustellen. Hierbei wird besonderer Fokus auf die Rezeptorexpression von ER β , TF-Ag, Glycodelin (Gd) und Inhibin B gelegt.

3 Material und Methoden

3.1 Kollektiv

Für diese Studie wurden insgesamt 82 Patientinnen, die in den Jahren von 1990-2002 in der Frauenklinik der Ludwig-Maximilian-Universität München in der Maistrasse in Behandlung waren, untersucht. Das Hauptaugenmerk liegt auf insgesamt 57 Patientinnen mit einem Endometriumkarzinom vom endometrioiden Typ. Sie wurden zwischen 1990 und 2000 in der Frauenklinik operiert und das gewonnene Material wurde histologisch ausgewertet. Die Patientendaten wurden retrospektiv aus dem Archiv der Frauenklinik und von dem Tumorregister München bezogen. Des Weiteren wurden immunhistochemische Untersuchungen an dem gewonnenen histologischen Material durchgeführt.

Das Tumorregister München - ein klinisches Krebsregister - sammelt systematisch die von den jeweiligen Kliniken übermittelten demographischen Daten, Diagnosen, Krankheitsrezidive, Begleiterkrankungen (Übergewicht, Diabetes, Blutdruck) so wie Behandlungsstrategien. Über eine Übermittlung aus den Kliniken sowie den Sterbeämtern können zusätzlich Informationen über den Sterbezeitpunkt onkologischer Patienten gesammelt werden.

Aus diesen 57 Patientinnen wurden zwei Kollektive gebildet:

Gruppe 1 bestand aus 35 Patientinnen mit endometrioidem Endometriumkarzinom (im Folgenden als Gruppe „End-CA“ bezeichnet); in Gruppe 2 wurden die Daten von 22 Patientinnen mit endometrioidem Endometriumkarzinom und zusätzlicher koexistenter Adenomyosis uteri erfasst (im Folgenden als Gruppe „End-CA/ AU“ bezeichnet).

Die zwei Patientinnenkollektive und ihre Charakteristika sind in Tabelle 5 zusammengefasst dargestellt.

Das Follow up betrug in Gruppe 1 „End-CA“ durchschnittlich knapp 8 Jahre, mit einem Mindest-Follow up von 5 Jahren und maximal 15 Jahren. Insgesamt starben 8 der 35 Patientinnen dieser Gruppe während des Follow ups. 2 Patientinnen konnten aufgrund mangelnder Informationen nicht nachverfolgt werden.

In Gruppe 2 „End-CA/ AU“ betrug das durchschnittliche Follow up 9 Jahre, mit Mindest-/Maximalnachverfolgungszeiten von 4-14 Jahren. 2 Patientinnen verstarben während dieser Zeit.

Einschlusskriterien für das Patientinnenkollektiv:

Insgesamt wurden in der Frauenklinik der Ludwig-Maximilian-Universität München in der Maistrasse in den Jahren von 1990 bis 2000 285 Patientinnen mit einem Korpuskarzinom diagnostiziert und operiert.

Eingeschlossen wurden 57 Patientinnen mit endometrioidem Endometriumkarzinom, bei denen eine totale Hysterektomie durchgeführt wurde und nach histologischer Sicherung, Material für weitere histologische Schnitte verfügbar war.

Für Gruppe 1 wurden Patientinnen ausgesucht, die bereits Bestandteil vorangegangener Studien waren und deren histologisches Material in einem Tissue microarray-Block (TMA) erfasst wurde. Grundlage ist die Studie von Heckl M, Schmoeckel E, Hertlein L, Rottmann M, Jescke U, Mayr D (2018), die 65 Endometriumkarzinome, davon 59 endometrioiden Endometriumkarzinome und 6 klarzellige Endometriumkarzinome untersucht hat.

Aufgrund unspezifischer histologischer Beurteilung der ursprünglichen Hysterektomiepräparate (lediglich als „Endometriumkarzinom“ oder „Adenokarzinom“ betitelt), insbesondere aus den Jahren 1990 bis 1993, wurde der Subtyp der 65 Endometriumkarzinome aus der Studie von Heckl M et al. (2018) erneut durch einen Pathologen des Pathologischen Instituts der Ludwig-Maximilians-Universität München beurteilt und eindeutig als endometrioid (59/ 65) oder klarzellig (6/65) bestimmt.

Die Differenz der 59 Patientinnen mit endometrioidem Endometriumkarzinom aus der vorangegangenen Studie und den 35 Patientinnen der Gruppe 1 („End-Ca“) dieser Studie resultiert aus folgenden Aspekten: Aufgrund eines gewünschten Follow-ups von 15 Jahren wurden elf Fälle, die nach 1999 operiert und histologisch gesichert wurden, nicht berücksichtigt. Bei sieben Patientinnen konnte eine koexistente Adenomyosis uteri nachgewiesen werden, so dass diese Patientinnen in Gruppe 2 („End-Ca/ AU“) aufgenommen wurden. Bei sechs Patientinnen war das histologische Material aufgrund von technischen Fehlern bzw. Abschwemmen des relevanten Gewebes für die immunhistochemischen Färbungen nicht mehr verwertbar.

In Gruppe 1 waren Nebendiagnosen wie Uterus myomatosus oder Myomknoten, Endometriumpolypen, Endometriosis genitalis externa und andere Karzinome erlaubt.

Von den 22 Patientinnen der Gruppe 2 dieser Studie waren sieben in dem bereits erwähnten TMA enthalten. 15 weitere Fälle mit endometrioidem Endometriumkarzinom und koexistenter Adenomyosis uteri wurden aus den 285 Fällen mit Endometriumkarzinom ausgesucht. Die histologischen Schnitte wurden durch die Pathologie der Ludwig-Maximilians-Universität München erneut auf den endometrioiden Subtyp und das gleichzeitige Vorhandensein der Adenomyosis uteri in dem histologischen Ausschnitt überprüft und identifiziert.

In Gruppe 2 fand sich als Nebendiagnose immer die Adenomyosis uteri. Auch hier wurden zusätzliche Pathologien wie der Uterus myomatosus akzeptiert.

Alle 57 Patientinnen waren bereits -neben vielen anderen Patientinnen- in den Untersuchungen der Studien von Mylonas et al. (2009) und Shabani et al. (2007) enthalten, so dass teilweise immunhistochemische Daten zur Verfügung standen.

Ausschlusskriterien für das Patientinnenkollektiv:

Patientinnen mit einem Endometriumkarzinom anderer Subtypen, z.B. serös, muzinös, papillär, klarzellig, adenosquamös oder Karzinosarkom und Plattenepithelkarzinom wurden von der Studie ausgeschlossen. Dieses Ausschlusskriterium traf auf 41 der 285 Patientinnen zu und entspricht mit 14,39% ungefähr der in der Literatur beschriebenen prozentualen Verteilung der Endometriumkarzinom Subtypen (Kurman RJ, Caracangiu ML, Herrington CS, Young RH, 2014). In den 41 Endometriumkarzinomen sind die 6 klarzelligen Endometriumkarzinome, die in der Studie von Heckl M et al. auf dem TMA erfasst wurden, enthalten und wurden somit nicht berücksichtigt.

Verteilung des Patientinnenkollektivs nach T- Stadien:

In der ersten Gruppe „End-CA“ (n=35) befanden sich 18 Patientinnen mit einem T-Stadium T1a (51,4%), 10 Patientinnen mit T1b (28,6%), 3 Patientinnen mit T2 (8,6%) und 4 Patientinnen mit T3 (11,4%). Keine der Patientinnen hatte ein Endometriumkarzinom im T4 Stadium. In der zweiten Gruppe „End-CA/ AU“ (n=22) hatten alle Patientinnen ein Karzinom im T1 Stadium; 19 davon waren T1a (86,4%) und nur 3 Patientinnen hatten ein T1b Stadium (13,6%). In der Gruppe 2 wurde kein Karzinom des Stadium T2-4 gefunden.

Material und Methoden

Die Stadieneinteilung der Pathologie aus den Jahren 1990-2002 wurde gemäß der 7.TNM Auflage (gültig ab 2010) aktualisiert und korrigiert (Wittekind und Meyer, 2010) (siehe Tabelle 3). In Tabelle 4 ist die Entsprechung der T-Stadien zur FIGO-Klassifikation dargestellt.

Material und Methoden

TNM-Klassifikation von 1988	Stadium	TNM-Klassifikation von 2010
	Tx	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
	T0	Kein Anhalt für Primärtumor
	Tis	Carcinoma in situ
	T1	Tumor begrenzt auf Gebärmutterkörper
Tumor begrenzt auf Endometrium	T1a	Tumor begrenzt auf Endometrium oder infiltriert weniger als die Hälfte des Myometriums
Tumor infiltriert weniger als die Hälfte des Myometriums	T1b	Tumor infiltriert die Hälfte oder mehr des Myometriums
Tumor infiltriert mehr als die Hälfte des Myometriums	T1c	
	T2	Tumor infiltriert das Stroma der Cervix uteri, breitet sich aber nicht jenseits des Uterus aus
Tumor infiltriert nur die endozervikalen Drüsen	T2a	
Tumor infiltriert das Stroma der Cervix.	T2b	
	T3	Lokale und/ oder regionale Ausbreitung
Tumor befällt Serosa des Corpus uteri oder die Adnexe. Oder es zeigt sich eine maligne Peritonealzytologie	T3a	Tumor befällt die Serosa des Corpus uteri und/ oder die Adnexe (direkte Ausbreitung der Metastasen)
Vaginalbefall (direkte Ausbreitung der Metastasen)	T3b	Vaginalbefall und/ oder Befall der Parametrien (direkte Ausbreitung der Metastasen)
Metastasen in Becken- und/ oder paraaortalen LK	T3c/ N1	Metastasen in Becken- und/ oder paraaortalen LK
	T3c1	Metastasen in Becken-LK
	T3c2	Metastasen in paraaortalen LK mit/ ohne Metastasen in Becken-LK
	T4	Tumor infiltriert Blasen- und/ oder Darmschleimhaut
Tumor infiltriert Blasen- und/ oder Darmschleimhaut	T4a	
Fernmetastasen einschließlich intraabdominelle oder inguinale LK	T4b	
	N0	Keine Metastasen in den regionären LK
	N1	Metastasen in den regionären LK
	M0	Keine Fernmetastasen nachweisbar
	M1	Tumor hat Fernmetastasen gebildet.

Tabelle 3: TNM Klassifikation 1988 vs. 2010.

Tabelle für 1988: (Amant et al., 2005), Tabelle für 2010: (Horn, Schierle, Schmidt, Ulrich, Liebmann, Wittekind, 2011)

T-Stadium	FIGO - Klassifikation
T1	I
- 1a	- IA
- 1b	- IB
T2	II
T3 und/ oder N1	III
- 3a	- IIIA
- 3b	- IIIB
- 3c oder N1	- IIIC
- 3c1/ 3c2	- IIIC1/ IIIC2
T4	IV

Tabelle 4: FIGO-Stadium entsprechend T-Stadium

Metastasierung: N und M-Stadieneinteilung:

In beiden Gruppen gab es jeweils eine Patientin mit pelvinen oder paraaortalen Lymphknotenmetastasen. Keine der Patientinnen zeigte zum Diagnosezeitpunkt Fernmetastasen.

Grading:

Für den Differenzierungsgrad der Karzinome ergaben sich folgende Verteilungen. In der Gruppe 1 „End-CA“ (n=35) hatten 16 Patientinnen (45,7%) ein hochdifferenziertes (G1) Karzinom, 18 (51,4%) ein mäßig differenziertes (G2) Karzinom und eine Patientin (2,9%) ein undifferenziertes (G3) Karzinom.

Bei 20 Patientinnen (91,0%) aus der Gruppe „End-CA/ AU“ zeigte sich ein hochdifferenziertes (G1) Endometriumkarzinom, eine Patientin (4,5%) hatte ein mäßig differenziertes (G2) Karzinom und bei einer Patientin (4,5%) war keine Differenzierung möglich.

Volkserkrankungen:

Die Verteilung häufiger Volkserkrankungen wie Adipositas, Diabetes und Hypertonie in den beiden Patientenkollektiven ist in Tabelle 5 dargestellt. Es zeigen sich keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Parameter	Endometrium-Ca (Gruppe 1 End-Ca)	Endometrium-Ca + Adenomyosis (Gruppe 2 End-Ca /AU)
Adipositas		
- Ja	12 (34,3%)	6 (27,3%)
- Nein	23 (65,7%)	16 (72,7%)
Diabetes		
- Ja	5 (14,3%)	3 (13,6%)
- Nein	30 (85,7)	19 (86,4%)
Hypertonie		
- Ja	11 (31,4%)	8 (36,4%)
- nein	24 (68,6%)	14 (63,6%)

Tabelle 5: Patientinnenkollektive und Volkserkrankungen

Altersverteilung:

Die Altersverteilung beider Kollektive ist in Abbildung 7 dargestellt.

Das mittlere Alter zum Zeitpunkt der Diagnosestellung war in beiden Gruppen ähnlich (Gruppe 1 „End-CA“: 63,2 Jahre, Gruppe 2 „End-CA/ AU“: 63,9 Jahre).

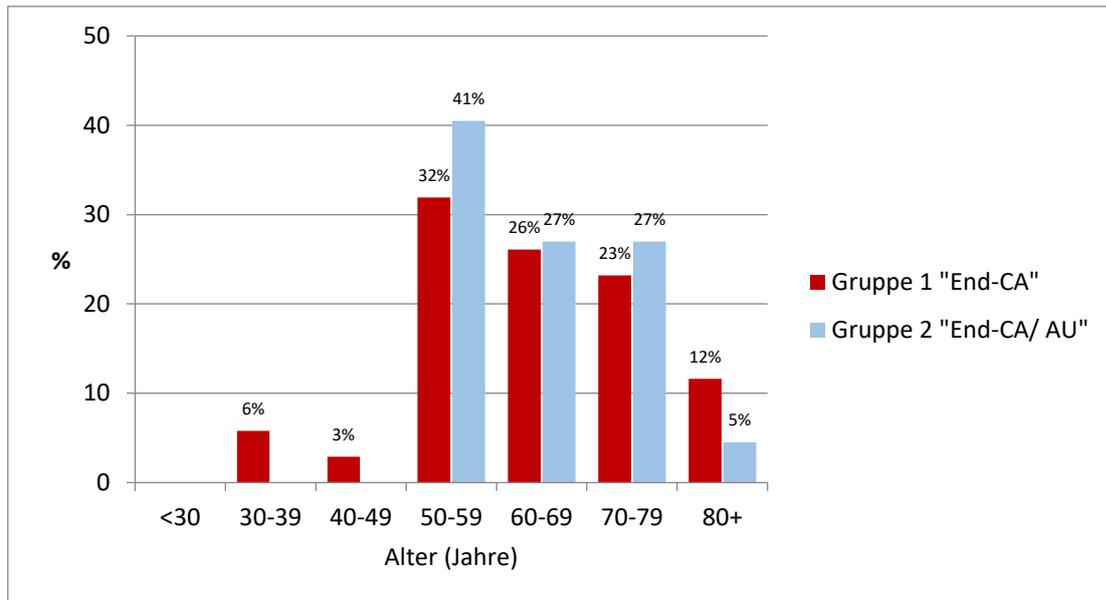


Abbildung 7: Altersverteilung beider Gruppen (1 „End-CA“ und 2 „End-Ca/ AU“) im Vergleich

Material und Methoden

Tabelle 6 zeigt eine Übersicht der genannten Parameter bezogen auf die beiden Kollektive.

Parameter	Endometrium-Ca (Gruppe 1 End-CA)	Endometrium-Ca + Adenomyosis (Gruppe 2 End-CA/ AU)
Personenanzahl	35	22
Karzinom Subtyp	Endometrium-Ca Endometrioid	Endometrium-Ca Endometrioid
Zusatzbefund		Adenomyosis uteri
Alter		
- Median	63,2 Jahre	63,9 Jahre
- Altersspanne	36 - 83	52-82
T1	28 (80%)	22 (100%)
T1a	18 (51,4%)	19 (86,4%)
T1b	10 (28,6%)	3 (13,6%)
T2	3 (8,6%)	0
T3	4 (11,4%)	0
T4	0	0
N	1 (2,9%)	1 (4,5%)
M	0	0
G1	16 (45,7%)	20 (91%)
G2	18 (51,4%)	1 (4,5%)
G3	1 (2,9%)	0
G unbekannt	0	1 (4,5%)
Mittleres Follow up	7,8 Jahre	8,9 Jahre
Range Follow up	5-14 Jahre (ohne Tod)	4-14 Jahre (ohne Tod)
Gestorben während Follow up	8 (22,8%)	2 (9%)
Follow up fehlt	2 (5,8%)	0

Tabelle 6: Übersicht der Patientinnenkollektive

3.2 Vergleichskollektiv

Um einen möglichen Einfluss der Expression des Estrogen Rezeptors auf den Verlauf des Endometriumkarzinoms zu untersuchen, wurden zum Vergleich zwei weitere Patientinnenkollektive ausgewertet.

Ebenfalls aus dem Archiv der Frauenklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München in der Maistrasse wurden Daten sowie Operationsmaterial für histologische Schnitte gewonnen.

Ein Vergleichskollektiv bestand aus 10 Patientinnen, die eine Adenomyosis uteri aufwiesen, jedoch karzinomfrei waren (im Folgenden als Gruppe „AU“ betitelt). Bei diesen Patientinnen wurde in den Jahren 2001 und 2002 eine Hysterektomie durchgeführt und histologisch eine milde bis ausgeprägte Adenomyosis uteri gesichert. Nebenbefundlich zeigten sich in 2 Präparaten fokale Endo-/ Myometriumhyperplasien sowie an einem Präparat ein Gestageneffekt. Patientinnen mit anderen benignen, den Uterus betreffenden Diagnosen (Polypen, Zysten, Zervizitis, Leiomyome, Deszensus uteri), wurden ausgeschlossen.

Das mittlere Alter der Patientinnen dieser Gruppe betrug 55,6 Jahre.

Die andere Gruppe enthielt 15 Patientinnen mit physiologischem Endometrium in der Proliferationsphase (im Folgenden als Gruppe „phys. End“ bezeichnet). Präparate mit Endometrium in anderen Zyklusstadien wurden ausgeschlossen.

Die Daten dieser Gruppe stammen aus einer vorherigen Forschungsarbeit von Prof. Dr. Udo Jeschke und Prof. Dr. Ioannis Mylonas, bei welcher Endometriumbiopsien im Rahmen von IVF-Behandlungen entnommen wurden und die Expression des Estrogen Rezeptors beta (ER β) immunhistochemisch bestimmt wurde (Mylonas I et al., 2004a).

3.3 Ethikvotum

Der Antrag zur Verwendung der Daten wurde am 13.10.2014 von der Ethikkommission genehmigt.

Ethikvotum Nummer: 449-14

3.4 Methodik

Mittels Immunhistochemie wurden die histologischen Präparate auf die Expression verschiedener Antigene und Rezeptoren getestet.

3.4.1 Anfertigung des histologischen Schnittes

Das operativ entfernte Gewebe wurde direkt über 24 Stunden in 4%igem Formalin fixiert. Im Anschluss daran wurden suspekte Teile aus dem Gesamtgewebe in maximal 5mm dicke Stücke geschnitten und erneut über 24 Stunden in Formalin fixiert.

Danach erfolgte die Einbettung des Materials. Dafür wurde das Fixationsmittel mit reichlich Leitungswasser ausgewaschen und im Folgenden durch flüssiges Paraffin ersetzt. Dafür wurde dem Gewebe Wasser über eine aufsteigende Alkoholreihe (70% Ethanol - 96% Ethanol -100% Ethanol - 100% Ethanol) entzogen während gleichzeitig das flüssige Paraffin (erhitzt auf 60°C) eindringen konnte. Dieser Vorgang erfolgte in einem Intermedium, dem organischen Lösungsmittel Xylol, welches sowohl hydrophil als auch hydrophobe Eigenschaften hat und sich somit mit Wasser und Ethanol mischen kann. Als letztes wurde das Gewebe mit flüssigem Paraffin in Form eines Blockes gegossen, konnte dort erkalten und später im Eisfach gekühlt werden.

Mit Hilfe eines Schlittenmikrotoms wurden 2-3 µm dicke histologische Schnitte von den Gewebelöcken angefertigt, welche in einem Streckbad mit 45°C warmen destilliertem Wasser geglättet und auf einen „Superfrost Plus“ Objektträger aufgezogen wurden. Dieser garantierte aufgrund positiver Ladung eine bessere Haftung für die Immunhistochemie. Um die Haftung der Schnitte noch weiter zu verbessern, wurden die Objektträger mit den Schnitten für eine Nacht bei 56-58°C im Brutschrank getrocknet.

3.4.2 Immunhistochemische Färbeverfahren

3.4.2.1 Avidin-Biotin-Komplex (ABC)-Methode

Die immunhistochemische Färbung der Paraffinschnitte für Inhibin B, das Thomsen-Friedenreich-Antigen (TF-Ag, CD176) und Gd (in Gruppe 1 „End-CA“) erfolgte mittels ABC-Methode.

Die Basis dieser Methode ist die starke Affinität von Avidin, ein tetrameres Glycoprotein aus Hühnereiweiß, zu Biotin, Vitamin H (Affinität: $K_a = 10^{15}$ L/mol). Avidin besitzt vier Bindungsstellen für Biotin. Vereinzelt kommt es jedoch zu unspezifischen Reaktionen unter Avidin. Aus diesem Grund wurde mit Hilfe der Gentechnik ein reineres, spezifischeres Protein, Streptavidin, aus dem Bakterium *Streptomyces avidinii* gewonnen. Dieses enthält keine Kohlenhydrate, woraus eine geringere unspezifischen Bindungsaktivität und somit höheren Sensitivität resultiert (Kricka and Wild, 2005).

Bei der ABC-Methode verwendet man einen biotinylierten Brückenantikörper (Sekundärantikörper), welcher zum einen an die Fc-Region des Primärantikörpers bindet und zum anderen mit seinem Biotinmolekül an den Avidin-Biotin-Komplex binden kann. An Letzteren ist außerdem das Enzym Peroxidase als Amplifikator gekoppelt. Dieses startet bei Hinzugabe einer Chromogenlösung (DAB) als Substrat eine Reaktion mit dunkelbraunem Farbniederschlag, der an dem Ort der Bindung mit dem Primärantikörper entsteht. Abbildung 8 zeigt die schematische Darstellung der ABC-Methode.

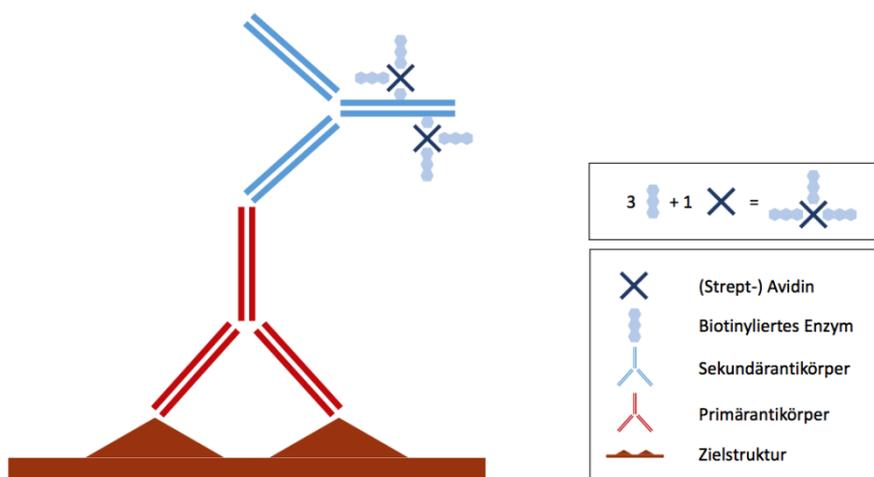


Abbildung 8: ABC-Methode
Eigendarstellung in Anlehnung an Noll und Schaub-Kuhnen, 2000.

3.4.2.2 ZytoChem-Plus HRP Polymer-Methode

Zum Nachweis des ER β sowie zum Nachweis von Gd (in Gruppe 2 „End-Ca/ AU“) wurde die ZytoChem-Plus HRP Polymer – Methode verwendet (siehe Abbildung 9).

Hierbei wird ein Enzym-Polymer verwendet, welches aus mehreren Molekülen des Sekundärantikörpers besteht, welche kovalent an mehrere Moleküle des Enzyms Peroxidase (HRP = Horse raddish peroxidase) – ähnlich der ABC-Methode- gebunden sind. Durch Zugabe eines Chromogens entsteht auch hier eine deutliche Reaktion mit Farbniederschlag. Vorteil dieser Methode ist, dass sie unabhängig von endogenen Biotinen ist.

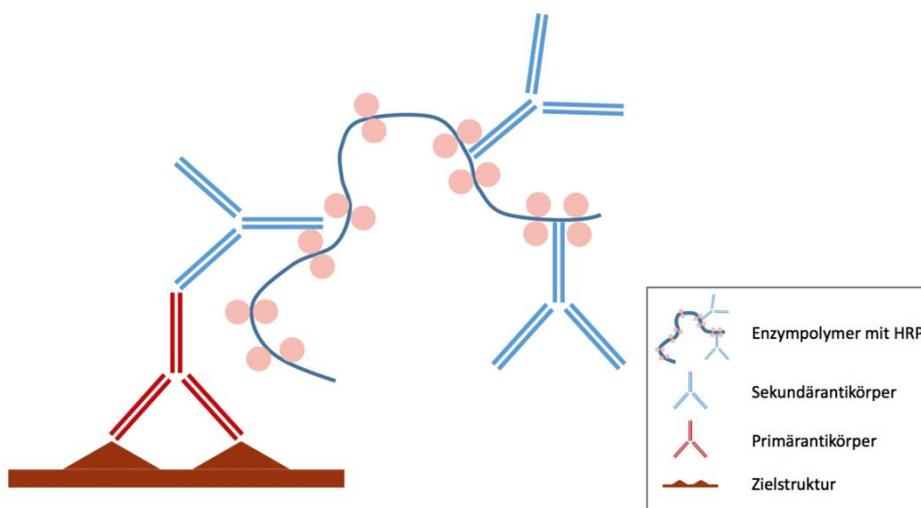


Abbildung 9: ZytoChem-Plus HRP Polymer Methode.

Eigendarstellung in Anlehnung an Noll und Schaub-Kuhnen, 2000; Sigma-Aldrich, 2016; Zytomed Systems: ZytoChem-Plus HRP Polymer-Kit. Gebrauchsanweisung.

3.4.2.3 Färbevorgänge

Als erstes wurde das Paraffin aus den histologischen Schnitten mit Hilfe von Xylol herausgelöst, welches im Anschluss durch eine absteigende Alkoholreihe (100% Ethanol - 3%iges H_2O_2 - 100% Ethanol - 96% Ethanol - 96% Ethanol - 70% Ethanol - 70% Ethanol) bis zum destillierten Wasser ebenfalls entfernt wurde. Der Zwischenschritt mit dem Wasserstoffperoxid (H_2O_2) inaktiviert die endogenen Peroxidasen, damit es später keinen falsch positiven Farbniederschlag gibt. Dafür stand der Schnitt für 20 Minuten in einer Lösung aus 3ml 30%igem H_2O_2 und 97ml Methanol. Um alle Epitope der Antigene zu demaskieren wurden die Schnitte für 5 Minuten in einem Na-Citratpuffer im Dampfkochtopf gekocht, wodurch die durch Formalinfixierung

Material und Methoden

entstandene Proteinvernetzung aufgehoben wurde. Anschließend kühlten die Schnitte ab und wurden 5 Minuten lang mit Aqua dest. gespült.

Der Na-Citratpuffer setzt sich aus folgenden zwei Lösungen im Verhältnis 18ml Lösung A zu 82ml Lösung B zu 900ml Aqua dest. zusammen.

Lösung A: 21,01g 0,1M Citronensäure (Merck#244) + 1l Aqua dest.

Lösung B: 29,41g 0,1M Na-Citrat (Merck#6448) + 1l Aqua dest.

Danach wurden die Schnitte 2 x 2 Minuten in der PBS-Puffer-Stammlösung (PBS) gewaschen.

Diese PBS-Puffer-Stammlösung setzt sich aus Folgendem zusammen: 450g NaCl + 13,35g KH_2PO_4 + 71,65g Na_2HPO_4 + 5l Aqua dest. Für die Gebrauchslösung werden 500ml Stammlösung mit 4,5l Aqua dest. verdünnt. Der pH wurde mit KOH auf 7,2 eingestellt.

Der nächste Schritt diente dazu, unspezifische Bindungen des Primärantikörpers an Membranen oder Fettgewebe zu blockieren, um eine falsch positive Anfärbung auszuschließen. Hierzu wurden die Schnitte in ein Blockiermedium gestellt, welches dann elektrische Ladungen im Gewebe ausbalanciert hat und somit verhindern konnte, dass sich Immunglobuline unspezifisch an Membranen oder Fettgewebe binden. Dieses Blockierungsserum (gelbe Flasche) für die Färbungen des Inhibin B, CD 176 und Gd entstammte aus dem Vectastain® Elite mouse-IgG-Kit der Firma Vector Laboratories. Hiervon kamen 3 Tropfen Normalserum auf 10ml steriles PBS. Mit dieser Lösung wurden die Schnitte 30 Minuten lang bedeckt. Bei dem Nachweis von Gd wurde zusätzlich 45 Minuten lang mit dem Ultra-V-Block und 30 Minuten mit humanem AB-Serum 1:10 in PBS blockiert. Für die Detektion des ER β wurde die Blocking Solution (Reagent 1) aus dem ZytoChem Plus HRP Polymer System-Kit der Firma Zytomed verwendet. Diese musste 5 Minuten einwirken.

Anschließend wurde das Blockierungsserum nur abgeschüttet und der Schnitt nicht mehr gewaschen.

Es folgte die Inkubation mit dem Primärantikörper bei 4°C über Nacht im Kühlschrank. Die unterschiedlichen Primärantikörper sind in Tabelle 7 zusammengefasst.

Material und Methoden

Primärantikörper gegen:	Isotyp	Klon	Hersteller	Verdünnung
Inhibin B	Mouse IgG2a	C5	Serotec; Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA	1:70 in Dako Verdünnungsmedium
Thomsen-Friedenreich-Ag (CD176)	Mouse IgM	A78-G/A7	Glycotope (früher: Nemod)	1:10 in Dako Verdünnungsmedium
Glycodelin	Mouse IgG1 kappa	6F2	Zytomed Systems GmbH, Berlin, Germany	1:4000 in PBS
Estrogen Rezeptor beta	Mouse IgG2a	PPG5/10	Dako; Agilent Technologies GmbH, Waldbronn, Germany	1:200 in Dako Verdünnungsmedium

Tabelle 7: Primärantikörper

Am nächsten Tag wurde der Schnitt 2 x 2 Minuten in BPS gewaschen, über 30 Minuten mit dem Sekundärantikörper inkubiert, wieder 2 x 2 Minuten in PBS gewaschen und anschließend ebenfalls 30 Minuten mit dem ABC-Komplex bzw. HRP-Polymer beschichtet. Der ABC-Komplex wurde zeitlich so angesetzt, dass er noch 30 Minuten vor Verwendung ruhen konnte. Er setzte sich zusammen aus: 4 Tropfen Reagenz A + 4 Tropfen Reagenz B + 10ml sterilem PBS.

Bei der Färbung des ER β wurde ein Zwischenschritt zwischen Primärantikörper und Sekundärantikörper (siehe Tabelle 8) eingefügt, welcher die Inkubation mit einem Verstärkungsreagenz, Post Block (Reagent 2), über 20 Minuten und Waschung mit PBS beinhaltete.

Sekundärantikörper gegen:	Isotyp	Hersteller	Verdünnung	Detektionssystem
Anti-Inhibin B	Mouse IgG	Vectasatin		ABC-Komplex
Anti- CD 176	Goat anti-mouse IgM: Biotin	Linaris	1:100 in Dako Verdünnungsmedium	ABC-Komplex
Anti- Glycodelin	Mouse IgG	Vectastain		ABC-Komplex
Anti-Glycodelin („End-Ca/ AU“)	HRP-Polymer (Reagent 3)	Zytomed		HRP-Polymer
Anti-Estrogen Rezeptor beta	HRP-Polymer (Reagent 3)	Zytomed		HRP-Polymer

Tabelle 8: Sekundärantikörper

Material und Methoden

Antigen	Gruppe			
	"End-CA"	"End-CA/ AU"	"AU"	"phys. End"
Estrogen Rezeptor beta	HRP-Polymer	HRP-Polymer	HRP-Polymer	HRP-Polymer
Glycodelin	ABC	HRP-Polymer	/	/
Thomsen-Friedenreich	ABC	ABC	/	/
Inhibin B	ABC	ABC	/	/

Tabelle 9: Färbungsmethoden für entsprechendes Antigen

Nach erneutem Waschen in PBS wurde nun die Substratfärbung mit 3,3 Diaminobenzidin (DAB) -Chromogen für 2 Minuten durchgeführt. Dafür wurden 2ml Substratpuffer + 2 Tropfen DAB Chromogen der Firma Dako benutzt.

Nach 2 x 2-minütigem Waschen in Aqua dest. wurde der Schnitt für 3 Minuten mit saurem Hämalaun nach Mayer gegengefärbt und 5 Minuten unter fließendem Leitungswasser gebläut. Diese Methode ermöglichte eine kräftig blaue Anfärbung der Nuclei sowie eine zartblaue Färbung des Zytoplasmas und somit eine bessere Orientierung im Gewebe.

Um das Gewebe zu entwässern durchliefen die Schnitte eine aufsteigende Alkoholreihe (70% Ethanol – 96% Ethanol – 100% Ethanol - 100% Ethanol) bis zum Xylol. Zuletzt wurden die Schnitte mit Eukitt eingedeckt.

Eine jeweilige Positivkontrolle durchlief die Färbung parallel zu den Schnitten. Die Gewebe, die für die Positivkontrollen verwendet wurden, sind in Tabelle 10 dargestellt.

Antigen	Organ Positivkontrolle
Inhibin B	Ovar
CD 176	Endometrium Mamma
Glycodelin	Plazenta
Glycodelin („End-Ca/ AU“)	Endometrium Plazenta
Estrogen Rezeptor beta	Vagina Plazenta

Tabelle 10: Positivkontrollen für das Antigen

Material und Methoden

Unter dem Lichtmikroskop wurde die Färbung mittels Immunoreactive Score (IRS) von 2 Gutachtern unabhängig von einander ausgewertet. Bei dem IRS wird die Färbeintensität (0= keine Reaktion, 1= schwache Reaktion, 2= mäßige Reaktion, 3= starke Reaktion) sowie der prozentuale Anteil positiver Zellen (0= keine, 1= weniger als 10%, 2= 10-50%, 3= 51-80%, 4= mehr als 80%) bestimmt. Aus der Multiplikation der beiden Einzelwerte ergibt sich der endgültige IRS-Wert (0-2: negativ, 3-4: schwach positiv, 6-8: mäßig positiv, 9-12: stark positiv) (siehe Tabelle 11) (Remmele und Stegner, 1987).

Färbeintensität		Prozentualer Anteil positiver Zellen		IRS-Wert	
0	keine Reaktion	0	keine	0 - 2	negativ
1	schwache Reaktion	1	< 10%	3 - 4	schwach positiv
2	mäßige Reaktion	2	10-50%	6 - 8	mäßig positiv
3	starke Reaktion	3	51-80%	9 - 12	stark positiv
		4	> 80%		

Tabelle 11: Immunoreactive Score (IRS)

Mit einer speziellen Kamera wurden Fotos der Färbungen angefertigt.

3.5 Statistische Methoden

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe der SPSS Statistik Software (Version 23) von IBM. Um dem Zusammenhang zwischen 2 Variablen zu ermitteln, wurde der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman verwendet. Hierbei zeigen sich Werte zwischen -1 (perfekte negative Korrelation) und +1 (perfekte positive Korrelation). Der Wert 0 gibt an, dass kein Zusammenhang besteht.

Mittelwertunterschiede von 2 unabhängigen Stichproben (En-Ca vs. En-Ca + Adenomyosis) bezüglich verschiedener Parameter (T-Stadium, Grading, Gesamtüberleben, ER β 1, TF-Ag) wurden mit dem nicht parametrischen Mann-Whitney-U-Test berechnet.

Außerdem wurde mit dem nicht parametrischen Kruskal-Wallis-Test die Beeinflussung des Survival Status (0 = lebt, 1 = verstorben) durch die Parameter Inhibin B und Gd getestet.

Bei Stichprobengrößen $> n=10$ wurde die asymptotische Signifikanz betrachtet.

Für die Survivalanalysen wurden Überlebenskurve nach Kaplan-Meier berechnet. Der Startpunkt wurde durch das Datum der Erstdiagnose des Endometriumkarzinoms definiert; der Endpunkt durch den Survival Status (0=lebt, 1=verstorben) zum letzten Follow-up Zeitpunkt. Daraus resultierte das jeweilige Gesamtüberleben in Monaten.

Für den Vergleich von Überlebenskurven wurde der Log-Rank-Test verwendet.

Als statistisch signifikant wurde ein p-Wert $< 0,05$ angesehen.

4 Ergebnisse

4.1 Gesamtüberleben

In beiden Gruppen zeigte sich mittels Mann Whitney U Test ein statistisch signifikanter Unterschied ($p=0,024$) hinsichtlich der Gesamtüberlebenszeit. Die Patientinnen der Gruppe „End-CA/ AU“ hatten eine bessere Überlebensprognose als Patientinnen der Gruppe „End-CA“ (Abbildung 10).

Das 5-Jahres Überleben lag mit 95% in der Gruppe „End-CA/ AU“ deutlich höher als mit 82% bei den Patientinnen der Gruppe „End-CA“. Auch nach 10 Jahren änderte sich das Überleben in der Gruppe mit Adenomyosis („End-CA/ AU“) nicht. In der anderen Gruppe („End-CA“) sank das Überleben nach 10 Jahren noch weiter auf 72%. Das mittlere Gesamtüberleben unterschied sich von 159 Monaten (13,25 Jahre) [95% Konfidenzintervall: 144-174 Monate] in der Gruppe „End-CA/ AU“ zu 142 Monate (11,8 Jahre) [95% Konfidenzintervall: 122-163 Monate] in der Gruppe „End-CA“.

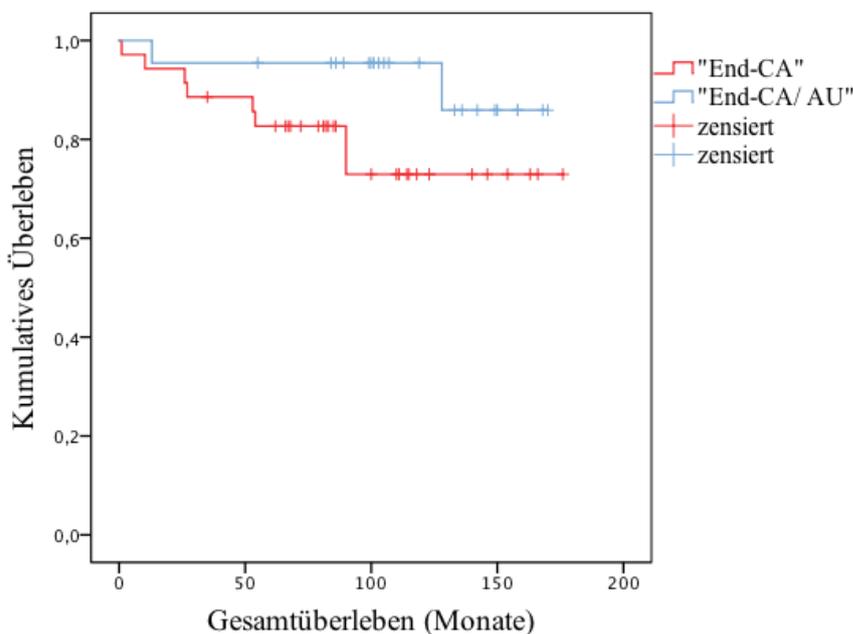


Abbildung 10: Kaplan-Meier-Kurve zur Darstellung des Gesamtüberlebens der beiden Gruppen „End-CA“ und „End-CA/ AU“

Die statistische Analyse zeigte ebenfalls eine signifikant längere Zeit bis zur Krankheitsprogression als bei den Patientinnen mit zusätzlicher Adenomyosis uteri („End-CA/ AU“) verglichen mit der den Patientinnen mit alleinigem Endometriumkarzinom („End-CA“) ($p=0,026$).

4.2 T-Stadium

Wie schon in dem Kapitel 3.1 Kollektiv, Verteilung nach T-Stadien beschrieben, zeigte sich in der Gruppe „End-CA/ AU“ ein insgesamt niedrigeres T-Stadium mit geringerem infiltrativem Wachstum der Karzinome. Alle Patientinnen dieser Gruppe wurden als T1 klassifiziert. Im Vergleich dazu zeigten sich bei der Gruppe „End-CA“ auch höhere T-Stadien. Bei der statistischen Analyse des Datensatzes fand sich mit dem Spearman Korrelationskoeffizienten ein signifikanter Unterschied ($p=0,001$) für das T-Stadium dieser beiden Gruppen. Auch der Mann-Whitney-U-Test bestätigte, dass sich die Mittelwerte beider Kollektive signifikant unterschieden ($p=0,002$).

Abbildung 11 zeigt einen Boxplot für das T-Stadium beider Kollektive. Hierbei ist erkennbar, dass die meisten Patientinnen ohne Adenomyosis uteri („End-CA“) ein T-Stadium von 1a und 1b (28; 80%) hatten. Die „Ausreißer“ repräsentieren die Patientinnen mit einem T-Stadium von T2 (3; 8,6%)(Kreis) und T3 (4; 11,4%) (Stern). Bei den Patientinnen mit Adenomyosis („End-CA/ AU“) zeigte sich bei allen Patientinnen ein T1 Stadium, worunter in 19/22 (86,4%) ein T1a Stadium (Linie) und in 3/22 (13,6%) ein T1b Stadium (Stern) diagnostiziert wurde.

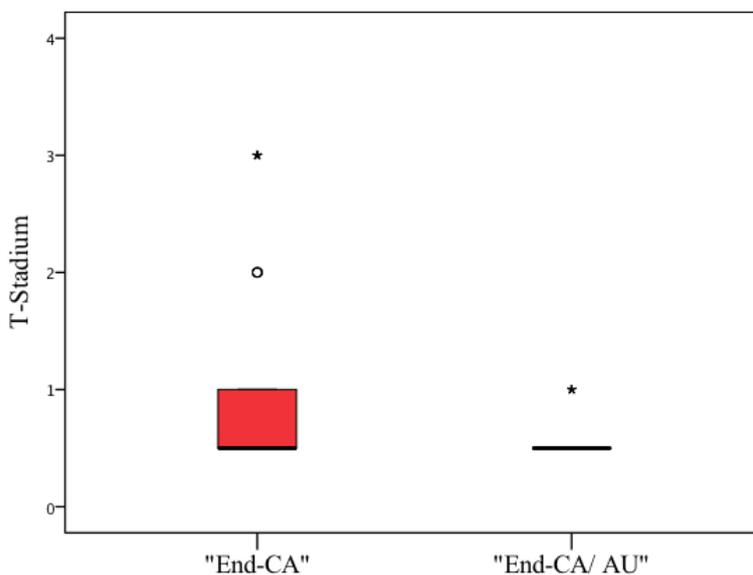


Abbildung 11: Boxplot zum Vergleich des T-Stadiums der beiden Patientenkollektive

4.3 Grading

Anhand der Auswertung der histologischen Schnitte durch das Pathologische Institut der LMU München war erkennbar, dass die Patientinnen ohne zeitgleiche Adenomyosis uteri („End-CA“) ein höheres Grading (bis G3) und somit ein schlechter differenziertes endometrioides Endometriumkarzinom aufwiesen als die andere Patientengruppe. Mittels der statistischen Analyse des Datensatzes bestätigte sich mit dem Spearman Korrelationskoeffizienten ein signifikanter Unterschied ($p=0,001$) für das Grading in dem Kollektiv mit den Patientinnen ohne Adenomyosis verglichen mit denen mit zeitgleicher Adenomyosis. Auch der Mann-Whitney-U-Test bestätigte, dass sich die Mittelwerte dieser beiden Gruppen signifikant unterscheiden ($p=0,001$). Patientinnen ohne Adenomyosis („End-CA“) zeigten auch hier ein schlechteres Grading.

Abbildung 12 zeigt einen Box Plot für das Grading in den beiden Gruppen. In der Gruppe „End-CA“ ist zu sehen, dass die meisten Patientinnen ein G1 (16; 45,7%) bzw. G2 (18; 51,4%) Endometriumkarzinom aufwiesen. In der Gruppe mit zeitgleicher Adenomyosis uteri („End-CA/ AU“) zeigte sich, bis auf eine Ausnahme (Ausreißer = Stern (G2)), bei allen Patientinnen ein hochdifferenziertes Endometriumkarzinom (G1).

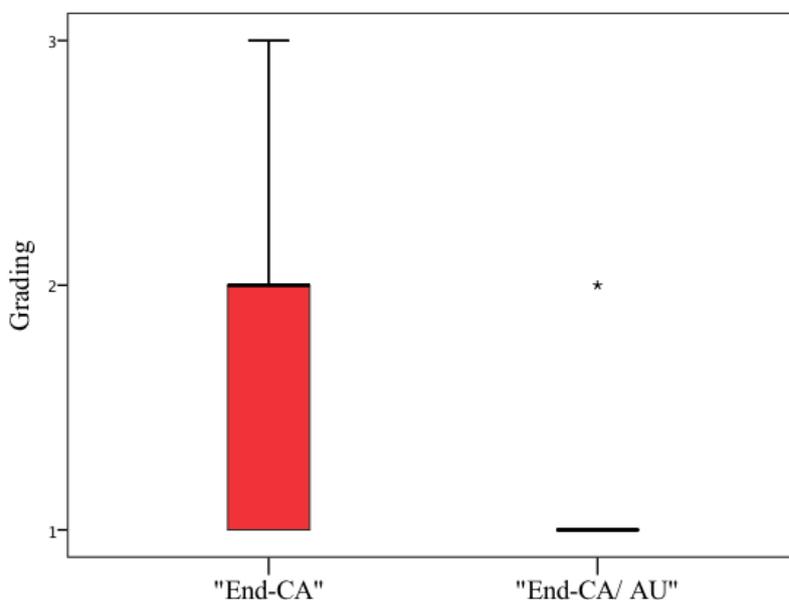


Abbildung 12: Boxplot zur Darstellung des Gradings in den Patientenkollektiven

4.4 Estrogen Rezeptor beta

4.4.1 Statistische Analyse Estrogen Rezeptor beta

Die statistische Auswertung zeigte einen statistisch signifikanten Unterschied bezüglich der Expression des ER β in den beiden Hauptgruppen („End-CA“ und „End-CA/ AU“). Mittels Mann-Whitney-U-Test wurde ein p-Wert von $<0,001$ berechnet. Es zeigte sich eine stärkere Expression des ER β bei Patientinnen mit Endometriumkarzinom und zeitgleicher Adenomyosis uteri (End-CA/ AU“). In der Gruppe „End-CA“ ließ sich der ER β nur in insgesamt 6 von 35 (17%) histologischen Schnitten positiv anfärben. Der Boxplot in Abbildung 13 zeigt für die histologischen Schnitte der Gruppe „End-CA“ den Median bei einem IRS von 0 und wenige Ausreißer bei niedrigen IRS-Werten von 1, 2 und 3. Im Gegensatz dazu zeigt sich bei der Gruppe „End-CA/ AU“ eine Spannweite der IRS-Werte zwischen 0 und 4; mit einem Median von 2.

Die größte Spannweite, und somit auch die höchsten IRS-Werte des ER β , fanden sich in der Gruppe „phys. End“ mit Werten bis 8. Die mittleren 50% der Daten der Patientinnen zeigten einen IRS zwischen 1 und 5. Der Median lag ebenfalls bei 2.

Den höchsten Median des ER β wiesen die Patientinnen mit reiner Adenomyosis uteri („AU“) auf. Die Gesamtspannweite lag hier jedoch auch nur zwischen 0 und 4 wie bei den Patientinnen mit Karzinom und Adenomyosis („End-CA/ AU“).

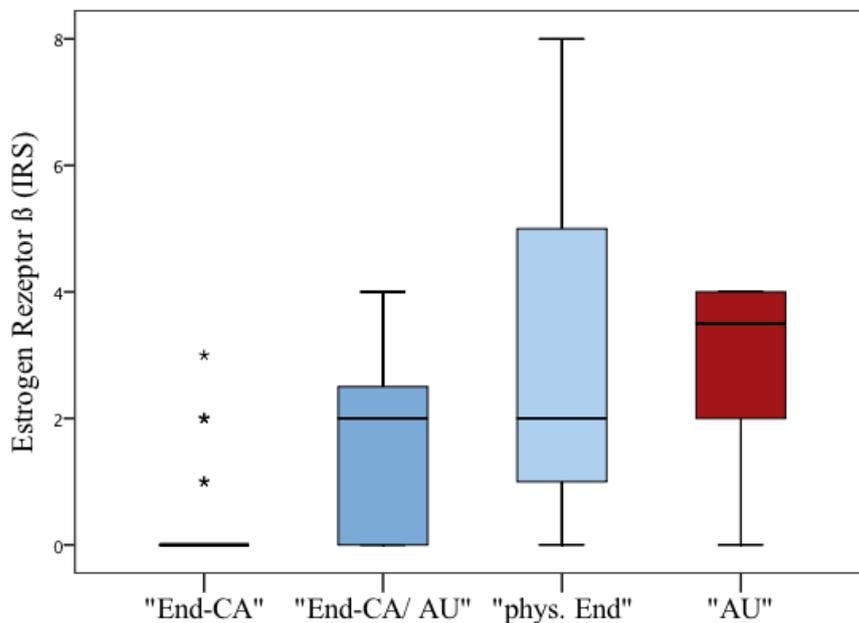


Abbildung 13: Boxplot zum Vergleich der ER β Expression.

Ergebnisse

Im Vergleich mit den zusätzlichen Kollektiven („AU“ und „phys. End“) zeigten sich signifikante Unterschiede in der Expression des ER β zwischen fast allen Gruppen untereinander. Lediglich die Unterschiede zwischen physiologischem Endometrium in der Proliferationsphase („phys. End“) und reiner Adenomyosis uteri („AU“), so wie zwischen „phys. End“ und endometrioidem Endometriumkarzinom mit Adenomyosis uteri („End-CA/ AU“) waren mit p-Werten $>0,05$ nicht signifikant (siehe Tabelle 12).

	"End-CA"	"End-CA/ AU"	"AU"	"phys. End"
"End-CA"	x	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$
"End-CA/ AU"	$<0,001$	x	0,015	0,091
"AU"	$<0,001$	0,015	x	0,681
"phys. End"	$<0,001$	0,091	0,681	x

Tabelle 12: Unterschiede (p-Werte) bezüglich der ER β Expression in den Patientenkollektiven.

4.4.2 Immunhistochemische Färbung Estrogen Rezeptor beta

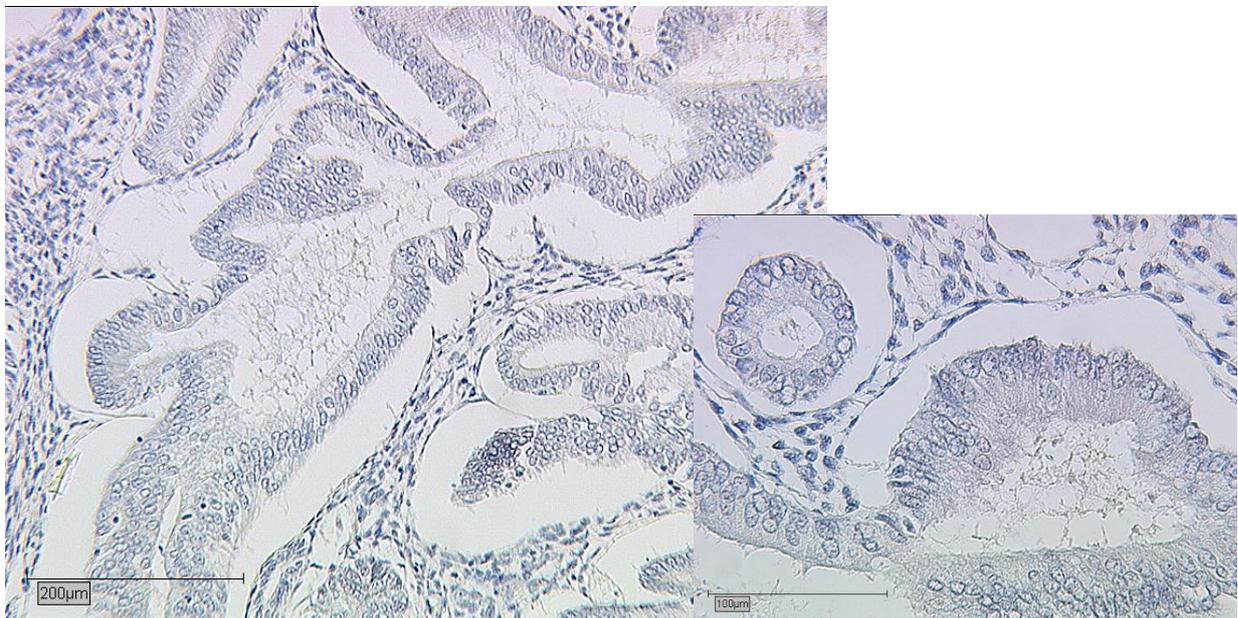


Abbildung 14: Endometriumkarzinom (Gruppe „End-CA“), ER β : IRS 0, (10x / 25x Vergrößerung)

Ergebnisse

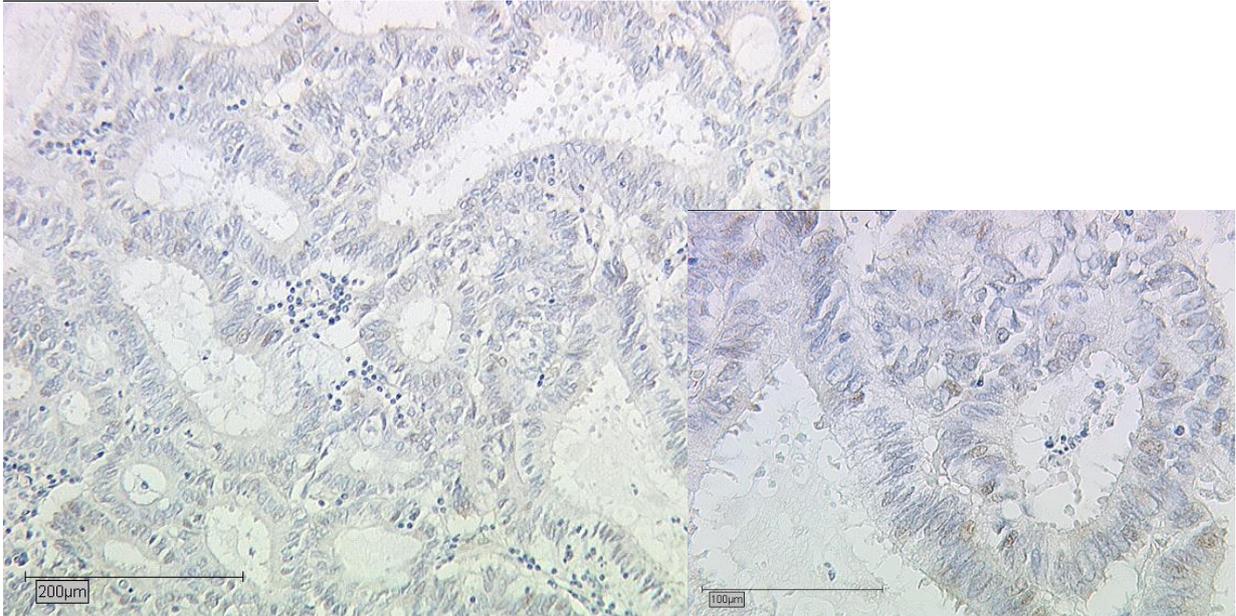


Abbildung 15: Endometriumkarzinom (Gruppe „End-CA/ AU“), ER β : IRS 2, (10x / 25x Vergrößerung)

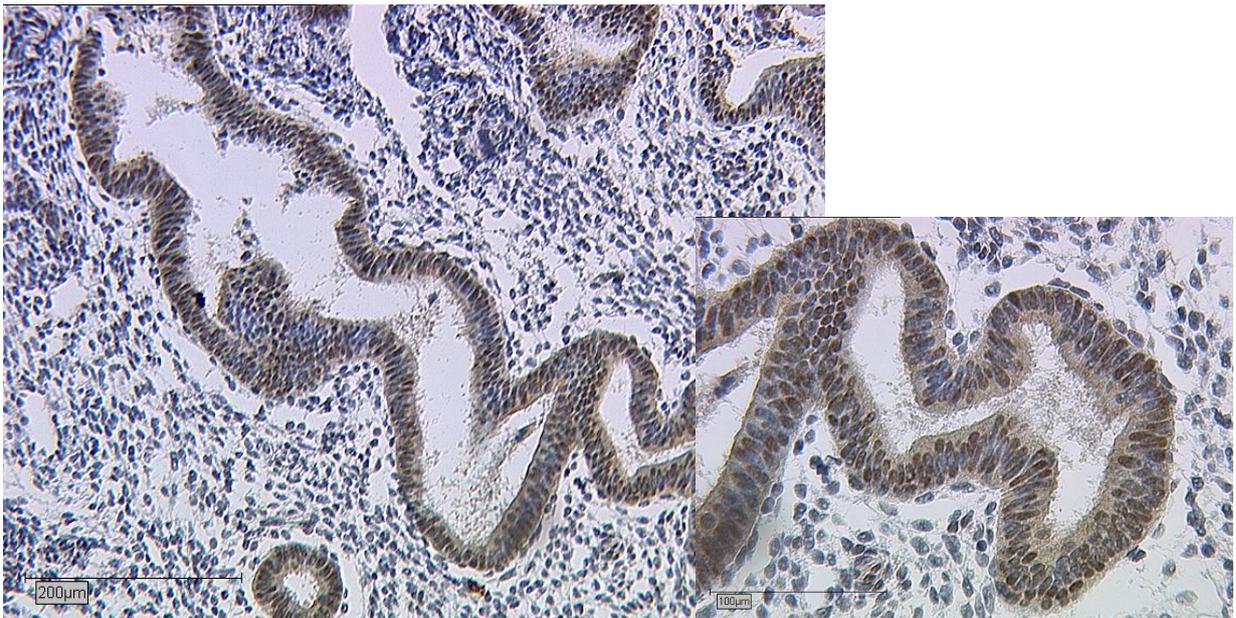


Abbildung 16: physiologisches Endometrium (Gruppe „phys. End“) in der Proliferationsphase, ER β : IRS 8, (10x/ 25x Vergrößerung)

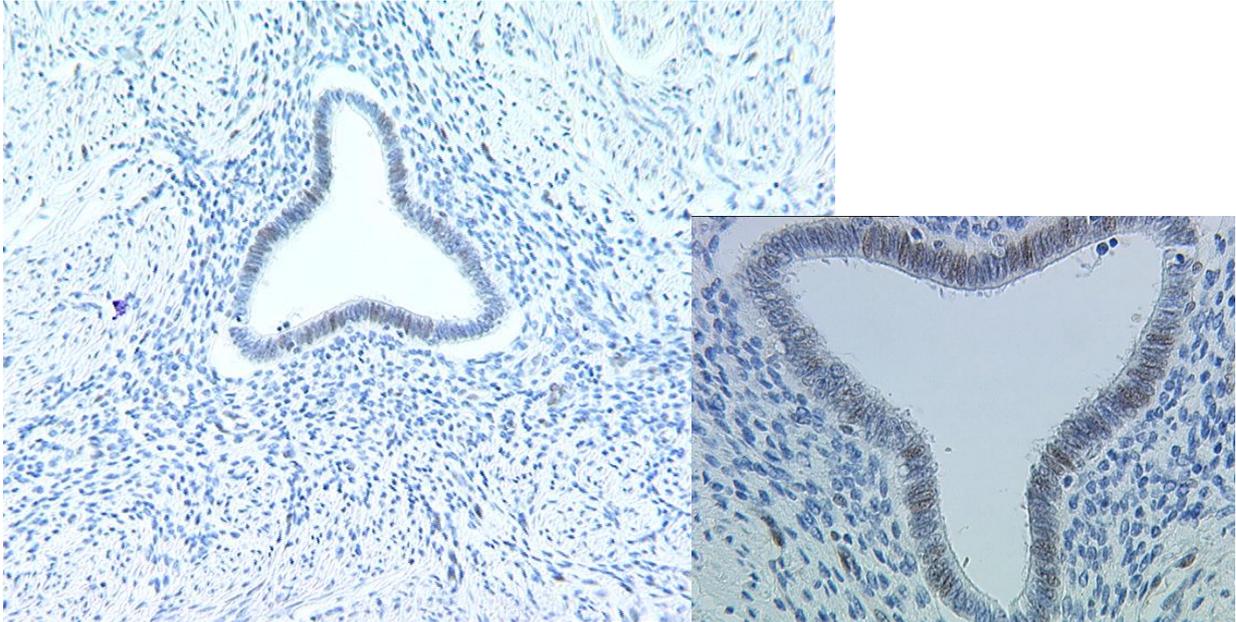


Abbildung 17: Adenomyosis uteri (Gruppe „AU“), ER β : IRS 4, (10x/ 25x Vergrößerung)

4.4.3 Expression in den Zellen der Adenomyosis uteri bei den Gruppen „End-CA / AU“ und „AU“

Ähnlich wie bereits für die Expression des ER β im Endometriumkarzinom beschrieben, findet sich auch ein signifikanter Unterschied zwischen dem IRS der reinen Adenomyosis uteri („AU“) verglichen mit der Adenomyosis uteri bei gleichzeitigem Endometriumkarzinom („End-CA/ AU“). Der p-Wert liegt mit 0,022 unter dem Signifikanzniveau von 0,05.

Anhand des Boxplots in Abbildung 18 lässt sich erkennen, dass sich die Expression des ER β in den Zellen der Adenomyosis uteri in den beiden Gruppen ähnlich verhält, wie die Expression des ER β in den Zellen des Endometriumkarzinoms (siehe Abbildung 13).

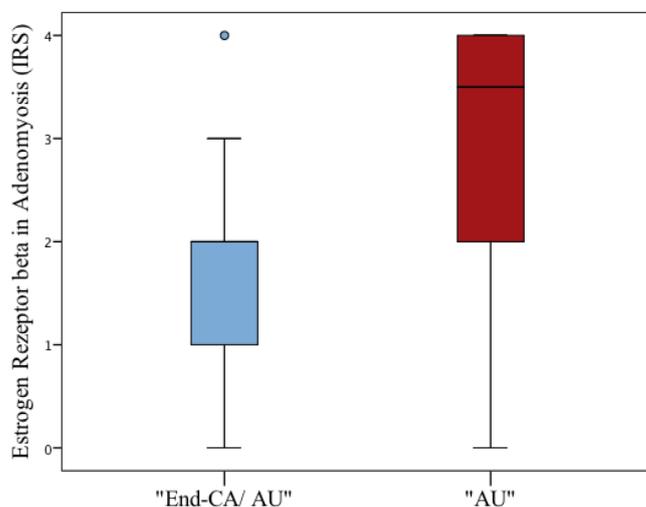


Abbildung 18: Boxplot zur Darstellung des IRS in der Adenomyosis uteri in den Gruppen „End-CA/ AU“ und „AU“

4.4.4 Einfluss des Estrogen Rezeptor beta auf das Überleben

Der Kaplan-Meier-Graph in Abbildung 19 zeigt Überlebenskurven der Patientinnen mit endometrioidem Endometriumkarzinom („End-CA“). In diesem Patientenkollektiv wird das Überleben bei Expression (IRS > 0) bzw. ohne Expression (IRS = 0) des ER β verglichen. Die Patientinnen mit erhöhter Expression des Rezeptors wiesen auch innerhalb dieser Gruppe eine bessere Überlebenszeit auf, als Patientinnen ohne Expression des ER β . Das 5 Jahres Überleben unterschied sich mit 100% (IRS > 0) deutlich von den 79% bei den Patientinnen ohne ER β Expression (IRS = 0). Noch eindeutiger zeigte sich der Unterschied im 10-Jahres Überleben in diesem Kollektiv (100% zu 66%).

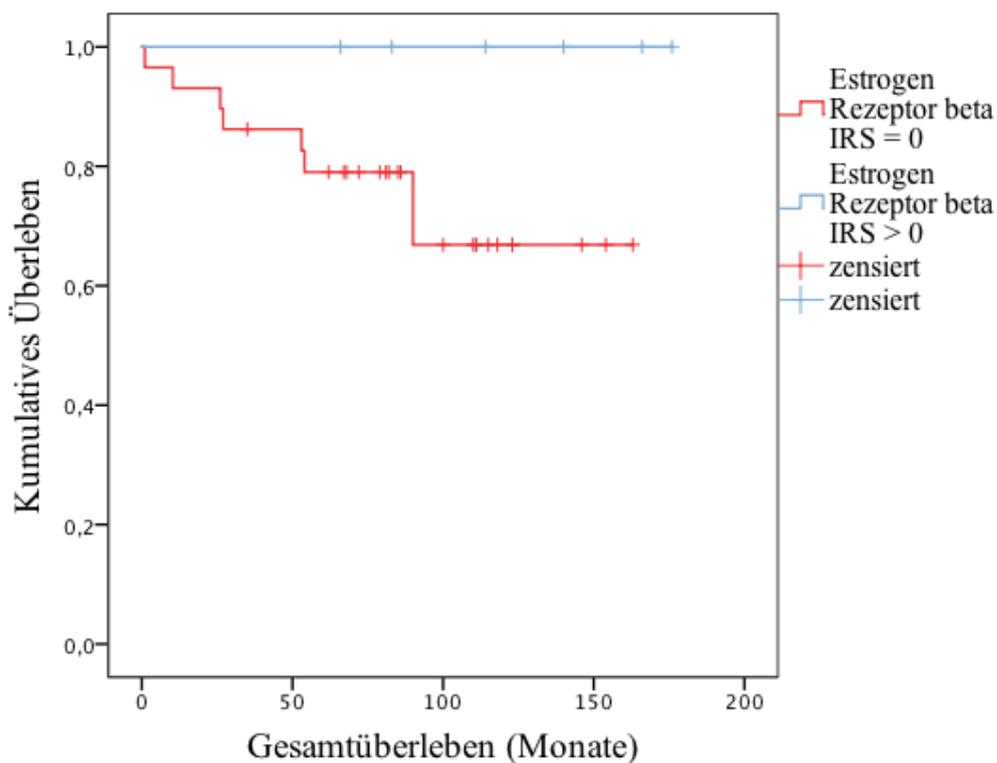


Abbildung 19: Kaplan Meier Kurve zur Darstellung des Überlebens in Abhängigkeit der ER β -Expression bei den Patientinnen mit Endometriumkarzinom („End-CA“)

4.5 Thomsen Friedenreich-Antigen

4.5.1 Statistische Analyse Thomsen Friedenreich-Antigen

Eine Tendenz für einen Zusammenhang zwischen der Expression des TF-Ag und Präsenz der Adenomyosis uteri ergab sich mittels Mann-Whitney-U-Test mit einem p-Wert von 0,058. Der Spearman Rangkorrelationskoeffizient deutete auch auf eine positive Korrelation (+0,489) zwischen der Expression des TF-Ags und der Präsenz der Adenomyosis uteri hin. Der Boxplot in Abbildung 20 verstärkt die Tendenz, dass das TF-Ag stärker bei den Patientinnen mit Endometriumkarzinom und zusätzlicher Adenomyosis uteri („End-CA/ AU“) exprimiert wird als bei den Patientinnen mit alleinigem Endometriumkarzinom („End-CA“).

In der Gruppe „End-CA“ zeigte die Mehrzahl der Patientinnen die Expression des TF-Ag mit einem IRS von 0 oder 1. Im Vergleich dazu waren die TF-Ag IRS-Werte zwischen 1 und 9 und einem Median von 4 in der Gruppe „End-CA/ AU“ deutlich höher.

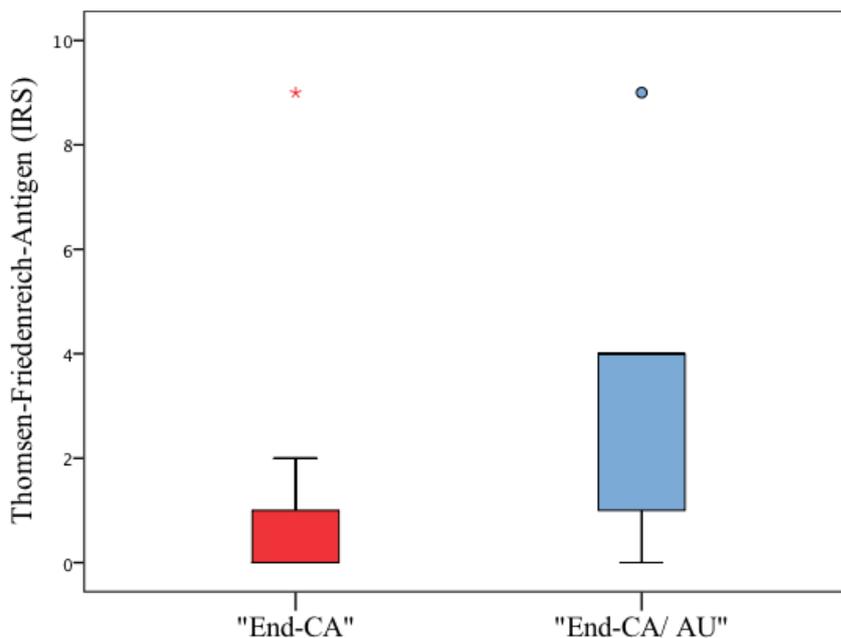


Abbildung 20: Boxplot zur Darstellung der Expression des TF-Ag in den Gruppen „End-CA“ und „End-CA/ AU“

4.5.2 Immunhistochemische Färbung Thomsen Friedenreich-Antigen

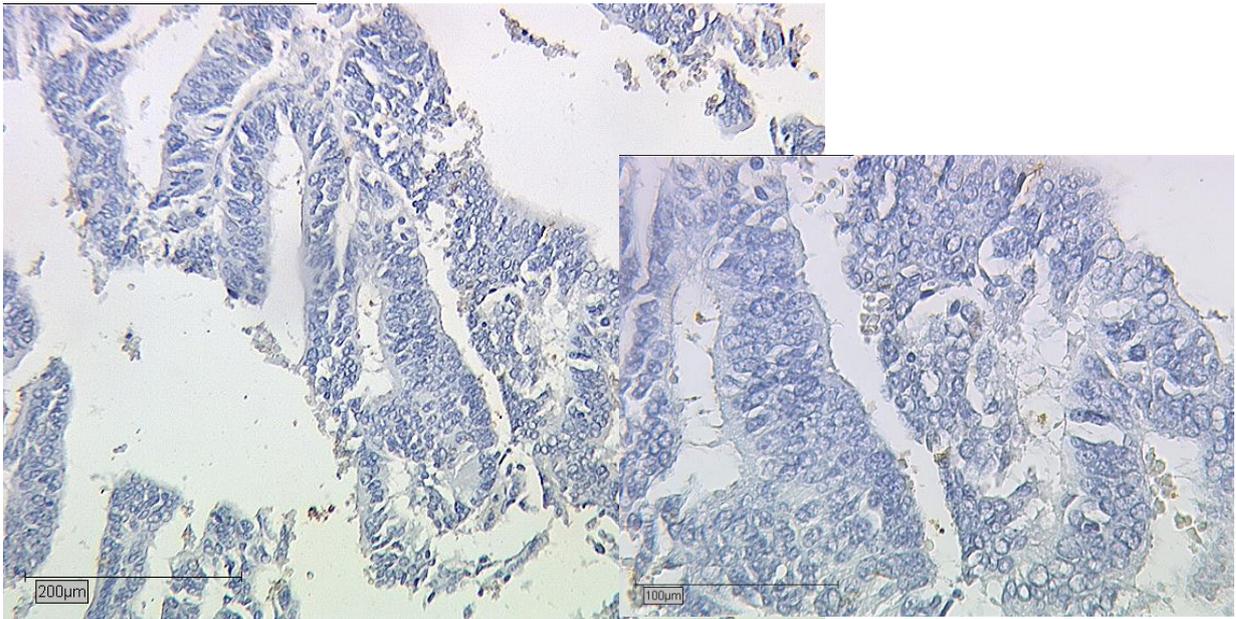


Abbildung 21: Endometriumkarzinom (Gruppe „End-CA“), TF-Ag: IRS 0, (10x / 25x Vergrößerung)

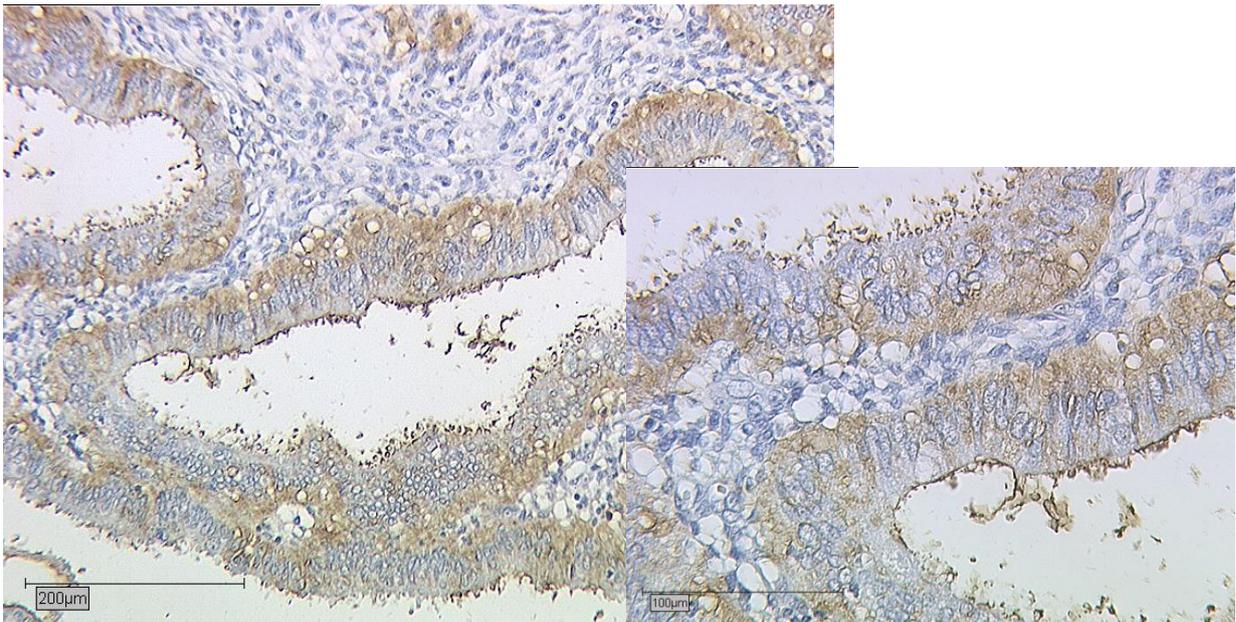


Abbildung 22: Endometriumkarzinom (Gruppe „End-CA/ AU“), TF-Ag: IRS 4, (10x / 25x Vergrößerung)

4.6 Glycodelin

4.6.1 Statistische Analyse Glycodelin

In der immunhistochemischen Färbung zeigte sich eine vermehrte Expression des Glycodelins in der Gruppe „End-CA“ verglichen mit der Gruppe „End-CA/ AU“ (siehe Abbildung 23). Die mittleren 50% der Gd IRS-Werte lagen zwischen einem IRS von 3 und 6. Der Median des Glycodelins lag bei einem IRS von 4 für die Patientinnen mit Endometriumkarzinom („End-CA“). In der Gruppe „End-CA/ AU“ wiesen die meisten Patientinnen mit IRS- Werten von 3 und 4 für Gd geringere Werte auf. Der Unterschied in der Expression für Gd wurde mit einem p-Wert von 0,028 in dem Mann-Whitney-U Test als signifikant berechnet.

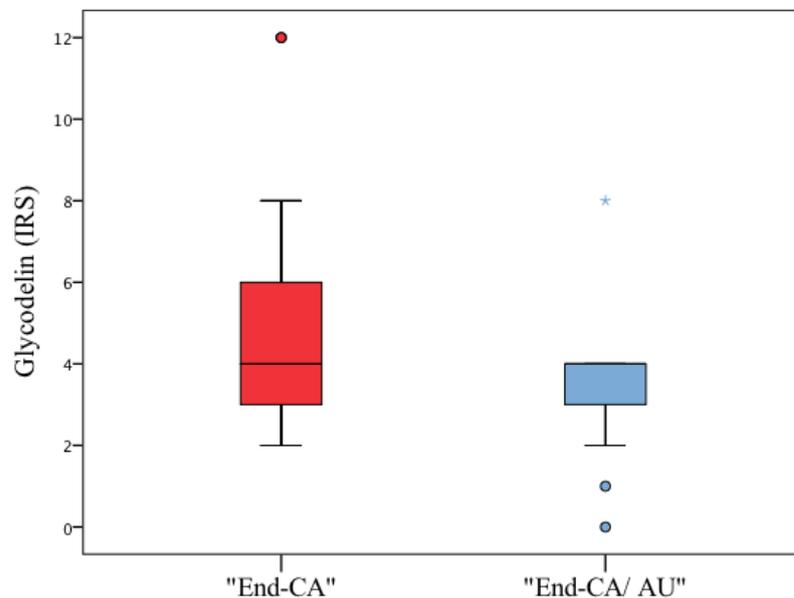


Abbildung 23: Boxplot zur Darstellung der Expression von Gd in den Gruppen „End-CA“ und „End-CA/ AU“

4.6.2 Immunhistochemische Färbung Glycodelin

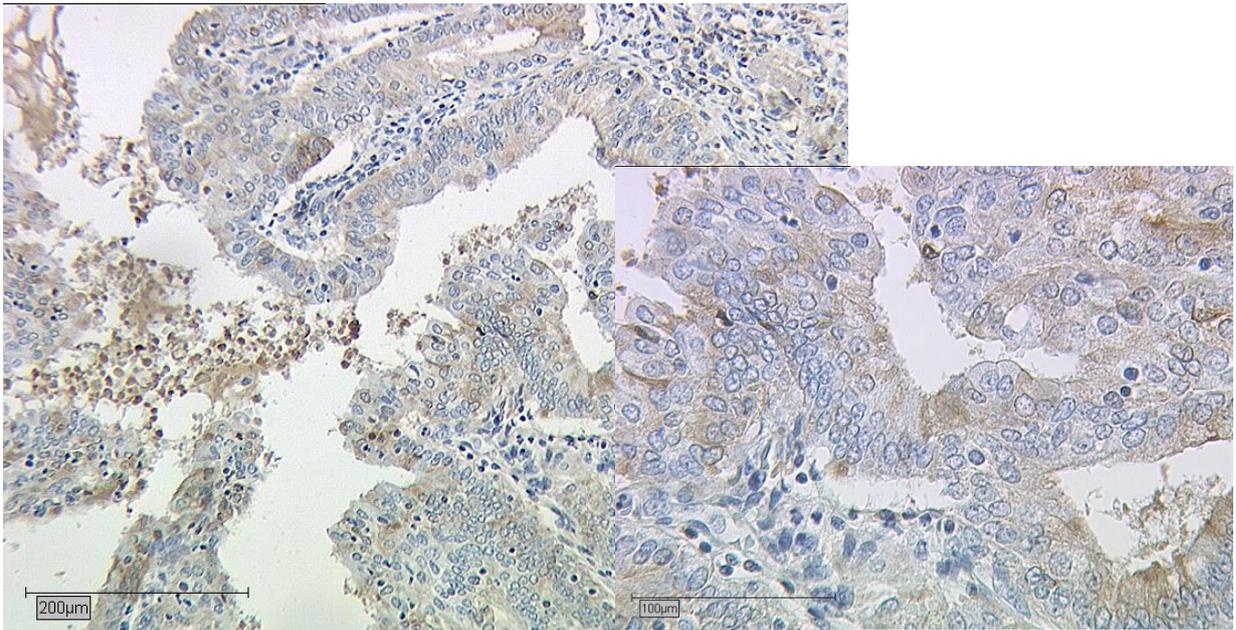


Abbildung 24: Endometriumkarzinom (Gruppe „End-CA“), Glycodelin: IRS 6, (10x / 25x Vergrößerung)

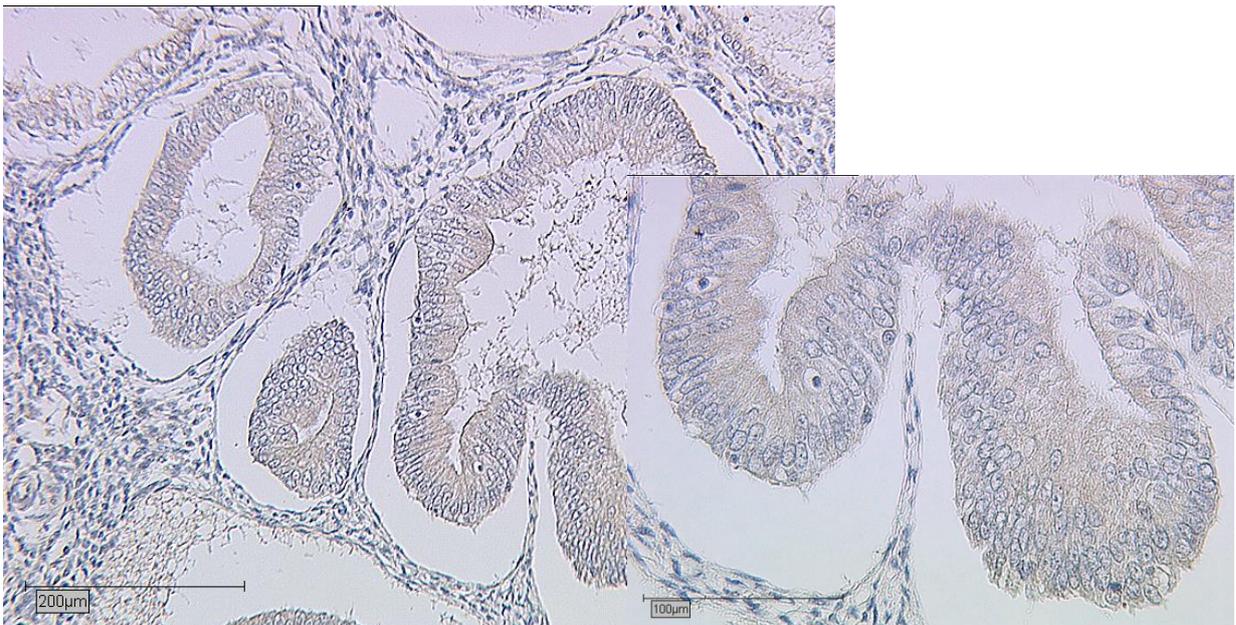


Abbildung 25: Endometriumkarzinom (Gruppe „End-CA/ AU“), Glycodelin: IRS 4, (10x / 25x Vergrößerung)

4.7 Inhibin B

4.7.1 Statistische Analyse Inhibin B

Inhibin B wird in den beiden Gruppen „End-CA“ und „End-CA/ AU“ sehr ähnlich exprimiert (Abbildung 26). Der Mann-Whitney-U-Test zeigte keinen signifikanten Unterschied (p-Wert: 0,316) zwischen den beiden Gruppen. Auch der Boxplot in Abbildung 26 verdeutlicht die Ähnlichkeit in der Expression des Inhibin B. Bei beiden Gruppen liegen die mittleren 50% der IRS-Werte zwischen 4 und 8.

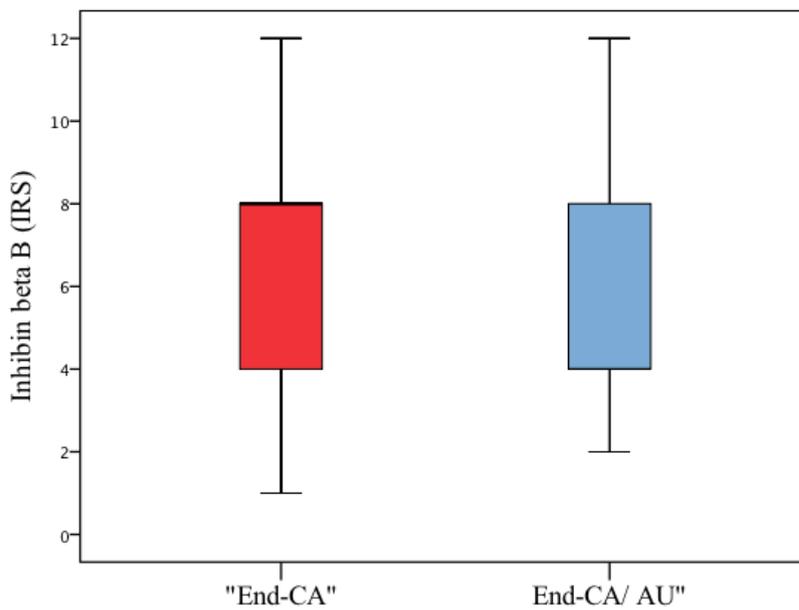


Abbildung 26: Boxplot zur Darstellung der Expression von Inhibin B in den Gruppen „End-CA“ und „End-CA/ AU“

4.7.2 Immunhistochemische Färbung Inhibin B

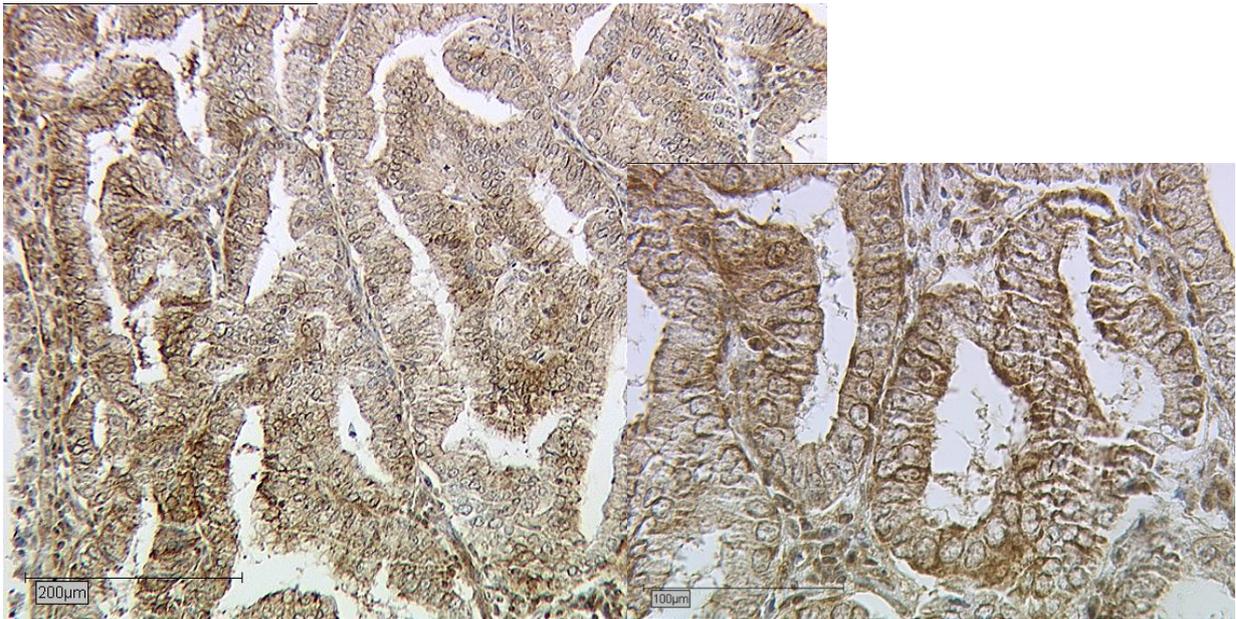


Abbildung 27: Endometriumkarzinom (Gruppe „End-CA“), Inhibin B: IRS 8, (10x / 25x Vergrößerung)

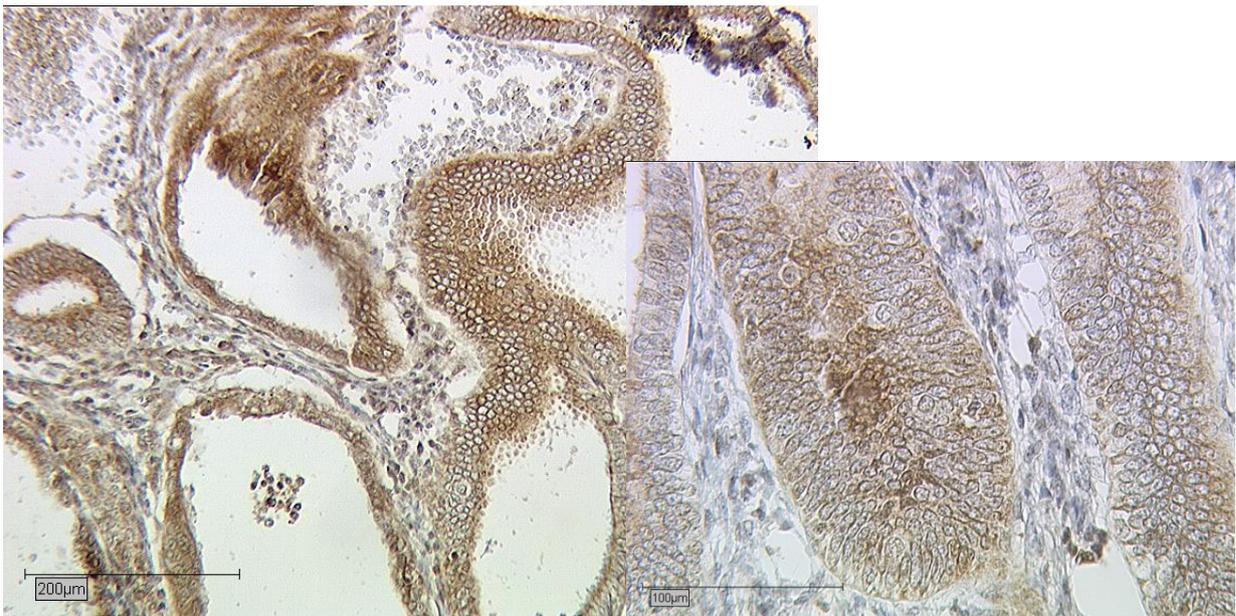


Abbildung 28: Endometriumkarzinom (Gruppe „End-CA/ AU“), Inhibin B: IRS 8, (10x / 25x Vergrößerung)

5 Diskussion

5.1 Patientenkollektiv

Die Studie profitiert von einem homogenen Patientenkollektiv, welches die beiden Gruppen („End-Ca“ und „End-Ca/AU“) im Allgemeinen hinsichtlich der verschiedenen histopathologischen Merkmale des endometrioiden Endometriumkarzinoms gut vergleichbar macht. So zeigen sich keine signifikanten Unterschiede in der Altersverteilung, bezüglich Risikofaktoren aufgrund erhöhter Estrogenproduktion und Volkskrankheiten wie Adipositas, Diabetes und Hypertension oder der Zeitspanne des Follow-ups.

Tumorspezifisch sind die beiden Gruppen bezüglich der Verteilung der TNM-Stadien und des Gradings statistisch signifikant unterschiedlich.

In einem weiteren Studiendesign wäre eine Untersuchung der immunhistochemischen Unterschiede zwischen endometrioiden Endometriumkarzinomen mit und ohne koexistenter Adenomyosis uteri nach Angleichung des Kollektivs hinsichtlich der Tumordinfiltrationstiefe oder des Gradings wünschenswert.

Als limitierender Faktor ist die geringe Fallzahl (35 Patienten in der Gruppe „End-Ca“ und 22 Patienten in der Gruppe „End-Ca/ AU“) zu sehen. Dies resultiert aus den ebenfalls relativ geringen Fallzahlen der früheren Studien, die Grundlage dieser Arbeit waren.

Das berücksichtigte, kleine Patientenkollektiv ist in bestimmten Aspekten mit anderen, größeren Studien vergleichbar. Das mittlere Erkrankungsalter unserer Patientinnen ist mit 63,55 Jahren konsistent mit dem der Studien von Gizzo et al., 2016 und Musa et al., 2012. Da unsere Patientinnen der Gruppe „End-Ca“ zudem eine ähnliche Verteilung des Gradings der Endometriumkarzinome wie die Patientinnen der Studie von Gizzo et al., 2016 und Musa F et al., 2014 (entsprechend: G1 45%, 39%, 36%; G2 51%, 45%, 47%; G3 3%, 16%, 15%) aufweisen, kann man annehmen, dass unser Patientenkollektiv der Gruppe 1 „End-Ca“, trotz der geringen Fallzahl, repräsentativ für Patientinnen mit endometrioidem Endometriumkarzinom ist. Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse hinsichtlich des Gradings von Patientinnen unserer Gruppe 2 „End-Ca/ AU“ mit den korrelierenden Patientinnen der anderen beiden Studien ist weniger gegeben. Das gut differenzierte Karzinom (G1) ist in den hier verglichenen Studien prozentual am häufigsten vertreten. Bei den anderen Tumordifferenzierungen (G2 und G3) sind die Fallzahlen und damit die prozentuale Verteilung abweichend. Zudem waren in dieser Studie

keine Patientinnen mit schlecht differenziertem endometrioidem Endometriumkarzinom und zusätzlicher Adenomyosis uteri vertreten.

5.2 Gesamtüberleben

Patientinnen mit endometrioidem Endometriumkarzinom und zeitgleicher Adenomyosis uteri zeigten im Rahmen dieser Studie sowohl ein deutlich besseres mittleres Gesamtüberleben (159 Monate) als auch mit 95% höhere 5- und 10-Jahres Überlebensraten als Patientinnen mit alleinigem endometrioidem Endometriumkarzinom (142 Monate, 5-JÜ 82%, 10-JÜ 72%).

Neben der Studie von Koshiyama et al. aus dem Jahr 2004 bestätigt also auch diese Studie einen signifikanten Überlebensunterschied ($p= 0,024$) mit einem Überlebensvorteil in der Gruppe „End-CA/AU“ gegenüber „End-CA“ (Koshiyama, Okamoto, Ueta, 2004). Bereits 1993 fanden Mittal und Barwick in Ihrer Studie eine sehr gute Prognose für Patientinnen mit endometrioidem Adenokarzinom mit gleichzeitiger Adenomyosis im Stadium T1a/b (Mittal und Barwick, 1993).

Verschiedene Studien beschrieben sogar eine 5-Jahres Überlebensrate von 100% für Patientinnen mit einem endometrioidem Adenokarzinom und zeitgleicher Adenomyosis. Diese Studien umfassen jedoch nur ein begrenztes Patientenkollektiv (zwischen 8 und 23 Fällen) (Hernandez, 1980; Hall et al., 1984; Jacques und Lawrence, 1990).

Nach unserem besten Wissen ist diese Studie bisher die Einzige, die aufgrund des Follow ups von 15 Jahren Aussagen zu der Auswirkung von Adenomyosis uteri auf die Zeit bis zu einer Progression des Endometriumkarzinoms machen kann. Auch hierbei ergibt sich ein signifikanter Unterschied ($p= 0,026$) mit einem größeren Intervall bis zur Tumorprogression des Endometriumkarzinoms bei Patientinnen mit zusätzlicher Adenomyosis uteri.

5.3 T-Stadium

In dem Patientinnenkollektiv der Gruppe „End-Ca/AU“ konnten alle Karzinome (22/22, 100%) als T1, entsprechend FIGO I, klassifiziert werden. In der Gruppe „End-Ca“ waren es hingegen nur 80% (28/35). Der Unterschied bezüglich der Ausdehnung des Endometriumkarzinoms in die Wandschichten des Uterus ist signifikant ($p= 0,02$). Hierbei zeigt sich bei Patientinnen mit Endometriumkarzinom und koexistenter Adenomyosis uteri eine geringere Eindringtiefe. Ein deutlicher Unterschied zeigte sich im Besonderen bei Patientinnen, die dem Stadium T1a bzw.

FIGO Ia, zugeteilt werden konnten. Hierbei ergab sich eine Verteilung von 86,4% in der Gruppe „End-Ca/AU“ gegenüber 51,4% bei alleinigem Endometriumkarzinom „End-CA“.

Die Ergebnisse stimmen mit den Resultaten aus den Studien von Musa et al. (2012) und Gizzo et al. (2016) überein. Beide Autoren berichten, dass das endometrioides Endometriumkarzinom mit zeitgleicher Adenomyosis uteri mit <50% Eindringtiefe in das Myometrium (entsprechend T1a und FIGO Stadium Ia), mit einem geringeren Grading und Ausbleiben einer Infiltration des lymphatischen- und mikrovaskulären Abflusssystemes (LVSI) einhergeht. Als mögliche Erklärung für diesen Befund werden Adhäsionsmechanismen zwischen Tumorzellen und adenomyotischen Foki vermutet. Durch die Adhäsionen wird ein tieferes Eindringen der Tumorzellen in das Myometrium verhindert (Matsuo et al., 2014 und 2016; Mehaseb, Panchal, Taylor, Brown, Bell, Habiba, 2011).

Das T-Stadium bei Patientinnen mit endometrioidem Endometriumkarzinom begleitet von Adenomyosis uteri wird jedoch auch kontrovers diskutiert. Trotz der vielen Studien, die einen positiven Einfluss der Adenomyosis uteri auf die Infiltration des Karzinoms in das Myometrium beschreiben, gibt es auch andere Studien, die darauf hinweisen, dass es entweder keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der myometranen Invasion / Tumorausdehnung gibt, oder dass Endometriumkarzinome mit zeitgleicher Adenomyosis uteri sogar tiefer in das Myometrium eindringen. In weiteren Studien wird sogar der Fall, bei dem das Endometriumkarzinom auf dem Boden einer Adenomyosis wächst, untersucht. Hier geht man davon aus, dass die vermehrte Invasion möglicherweise durch eine vergrößerte Kontaktfläche zwischen den malignen Zellen und dem anliegenden Myometrium gefördert wird (Ismiil et al., 2007; Mittal und Barwick, 1993).

Zu beachten bleibt jedoch, dass die Adenomyosis uteri die Bestimmung der Tiefenausbreitung des Endometriumkarzinoms im Myometrium erschwert (Musa et al., 2012) und somit falsch hohe oder niedrige T-Stadien zustande kommen können.

5.4 Grading

Die Patientinnen der Gruppe „End-CA/AU“ hatten zu 90,9% (20/22) ein hochdifferenziertes Endometriumkarzinom (G1) während in der Gruppe „End-CA“ nur 45,7% (16/35) ein solch gut differenziertes Karzinom aufweisen konnten. Das bessere Grading bei Patientinnen mit zusätzlicher Adenomyosis uteri bestätigt sich auch in den Studien von Gizzo et al. (2016) und

Koshiyama et al. (2004), welche berichten, dass endometrioiden Adenokarzinome, die von hormonabhängigen Krankheiten begleitet werden, gut differenziert (G1) waren.

Da ein geringes Grading mit einem besseren Überleben assoziiert ist, erklärt dies zumindest teilweise die bessere Prognose der endometrioiden Adenokarzinome mit paralleler Adenomyosis uteri (Christopherson, Connelly, Alberhasky, 1983; Frick, Munnell, Richart, Berger, Lawry, 1973).

5.5 Estrogen Rezeptor beta

Der Estrogen Rezeptor ist ein ligandenaktivierter Transkriptionsfaktor, der zu der Superfamilie der nukleären Steroidrezeptoren gehört (Shabani et al., 2007).

Es gibt zwei Estrogen Rezeptor-Isoformen (Estrogen Rezeptor alpha (ER α) und ER β), welche beide durch Estrogene aktiviert werden, jedoch unterschiedliche Gewebeverteilungen und Bindungsaffinitäten besitzen. Sie regulieren Zellwachstum, Differenzierung verschiedener physiologischer Gewebe sowie hormonabhängiger Tumore durch Interaktion mit zellulären Faktoren. Physiologischerweise vermitteln sie die Entwicklung der primären und sekundären weiblichen Geschlechtsorgane und sind für die zyklischen Veränderungen an Endometrium, Zervix und Vagina verantwortlich. Extragenital weisen sie eine anti-arteriosklerotische Wirkung auf und greifen durch Stimulation der Osteoblasten und Hemmung von Osteoklasten-aktivierender Interleukine in den Knochenstoffwechsel ein (Park, Gong, Romanelli, Lee, 2012; Rassow, Hauser, Netzker, Deutzmann, 2008, S.605).

Das primäre Zielorgan der Steroidhormone ist das Endometrium (Greaves, Collins, Critchley, Saunders, 2013; Katzenellenbogen, 1984), an welchem der ER β eine gegensätzliche Wirkung zu dem ER α aufweist und unerwünschte, durch ER α - vermittelte, Wirkungen verhindert (Bottner, Thelen, Jarry, 2014; Gustafsson, 2003; Hall und McDonnell, 2005).

Viele Studien belegen, dass der ER β ebenfalls in fast allen gut- und bösartigen Erkrankungen des Endometriums eine wichtige Rolle spielt (Hapangama, Kamal, Bulmer, 2015; Häring, Schüler, Latrich, Ortmann, Treeck, 2012a; Hu, Zhong, He, 2005; Shabani et al., 2007).

In unserer Studie haben wir die Expression des ER β anhand des IRS im physiologischen Endometrium zum Zeitpunkt der Proliferationsphase, bei Patientinnen mit reiner Adenomyosis uteri und bei Patientinnen mit endometrioidem Endometriumkarzinom allein sowie mit zeitgleicher Adenomyosis uteri, miteinander verglichen. In dem physiologischen Endometrium zeigt sich die stärkste Expression des ER β mit IRS-Werten bis acht. Die erhöhte Expression ist

konkordant mit Studien von Otsuki et al. (1994), in der von einer zyklischen ER β Expression mit Peak zur Proliferationsphase berichtet wird. Des Weiteren fanden sich in der Studie von Silvestri et al. (2007), dass Primaten, die während des gesamten Zyklus eine durchgehende Expression des ER β zeigten, ebenfalls hohe ER β Werte zum Zeitpunkt der späten Proliferation hatten (Otsuki, Misaki, Sugimoto, Ito, Tsujimoto, Akao, 1994; Silvestri und Fraser, 2007). Da die endokrinologischen Abläufe der Primaten nicht eins zu eins mit denen der Menschen übereinstimmen (Primaten zeigen keinen Anstieg der Estrogenlevel in der mid-sekretorischen Phase), muss der Vergleich mit Vorsicht betrachtet werden (Hapangama et al. 2015; Narkar, Kholkute, Chitlange, Nandedkar, 2006). Die Expression des ER β korreliert mit den Estradiolleveln während des Menstruationszyklus, wodurch die starke Expression des ER β in der späten Proliferationsphase/ frühen sekretorischen Phase zu erklären ist (Lecce, Meduri, Ancelin, Bergeron, Perrot-Appianat, 2001).

Verglichen mit dem physiologischen Endometrium zeigte sich bei Patientinnen mit alleiniger Adenomyosis uteri zwar eine kleinere Spannweite der IRS-Werte (IRS 0-4), jedoch mit einem IRS von knapp 4 den höchsten Median des ER β aller Vergleichsgruppen. Andere immunhistochemische Studien bestätigen eine stark positive Reaktion für Estrogen Rezeptoren in adenomyotischen Foki (Hsu, Chou, Lin, Liang, Chiu, Hsu, 2006) und sogar 100x höhere Level der ER β Expression in ektopen endometrialen Läsionen sowie in Adenomyosis uteri gegenüber dem eutopen Endometrium (Bulun et al., 2012).

Bei Patientinnen mit Adenomyosis uteri und zeitgleichem endometrioiden Endometriumkarzinom ist die ER β Expression gegenüber dem physiologischen Endometrium und der reinen Adenomyosis uteri in unserer Studie vermindert. Zwar ist die Spannweite mit IRS-Werten von 0 bis 4 ähnlich wie bei der alleinigen Adenomyosis uteri, doch wies der Großteil der Patientinnen eine ER β Expression entsprechend einem IRS-Wert von unter 3 auf. Bei den Patientinnen, die ausschließlich an einem endometrioiden Endometriumkarzinom erkrankt waren ließ sich die ER β Expression in vorliegender Arbeit sogar nur in 6 von 35 histologischen Schnitten (17%) nachweisen. In der Studie von Shabani N et al. (2007) konnte ebenfalls nur in 13,7% der 293 Patientinnen mit Endometriumkarzinom eine positive immunhistochemische Färbung für den ER β nachgewiesen werden. Die verminderte Expression des ER β bei Patientinnen mit alleinigem endometrioiden Endometriumkarzinom ist vereinbar mit früheren Studien, die reduzierte ER β Proteine sowie reduzierte ER β mRNA verglichen mit normalem

proliferierenden Endometrium fanden (Paul, Cholewa, Mazurek, Witek, Wilczok, 2004; Smuc und Rizner 2009). Auch in der Studie von Hsu et al. (2006) ließ sich eine schwächere Expression für Proteine des ER nachweisen. Die erhöhte ER β Expression in der Gruppe „End-CA/AU“ könnte auf die erhöhte ER β Expression in den adenomyotischen Foki zurückzuführen sein (Bulun et al., 2012).

Die hohe Expression des ER β in physiologischem Endometrium und die niedrige bis fehlende Expression im alleinigen endometrioiden Endometriumkarzinom lässt vermuten, dass der ER β die Funktion eines Tumorsuppressors besitzt.

Auch bei der Karzinogenese des Mamma- und Prostatakarzinoms wurde eine Verminderung oder ein Verlust der ER β Expression nachgewiesen, welches die Basis für die Hypothese darstellt, dass der ER β eine Rolle als Tumorsuppressor spielt (Bottner, Thelen, Jarry, 2014). Zudem wurde seine tumorsuppressive Funktion, im Sinne antiproliferativer Effekte bereits bei Mamma- und auch Ovarialkarzinom genauer analysiert. Durch die Hemmung von ER α -Transkriptionskomplexen, welche verschiedene Gene (c-myc, cyclin-I, cyclin-A) und die Induktion von cyclin-abhängigen Kinaseinhibitoren aktivieren würden, kommt es zu einem Arrest in der G2 Phase des Zellzyklus (Paruthiyil, Parmar, Kerekatte, Cunha, Firestone, Leitman, 2004). Aufgrund der verminderten ER β Expression in dem endometrioiden Endometriumkarzinom kann ein ähnlicher Mechanismus vermutet werden (Hapangama et al., 2015). Des Weiteren ist in der Literatur beschrieben, dass Estradiol über den ER β auf Endometriumzellen die Induktion der Apoptose herbeiführt, so dass man annehmen kann, dass bei hoher ER β Expression im physiologischen Endometrium der programmierte und kontrollierte Zelltod zu einer Elimination potenziell schädlicher Zellen führt. Zudem wurde eine erhöhte ER β Transkriptionsrate als Folge einer vermehrten Aktivierung des ER α durch Estradiol sowie des Progesteron Rezeptor (PR) durch Progesteron gesehen, weshalb postuliert wird, dass der ER β den limitierenden Faktor für die potente mitogene Wirkung von Estradiol in gesundem Endometrium darstellt. Im Umkehrschluss erklärt dieser Prozess das ungehinderte Zellwachstum des endometrioiden Endometriumkarzinoms bei reduzierter oder fehlender ER β Expression. Zusätzlich kann die verminderte Expression von ER β im endometrioiden Endometriumkarzinom als ein Zeichen für Zelltransformation bzw. Verlust von Zelldifferenzierung angesehen werden, da die Expression von solchen Steroidrezeptoren normalerweise als Charakteristikum für differenzierte Endometriumzellen gilt (Hapangama et

al., 2015).

Das bessere Überleben bei den Patientinnen mit alleinigem endometrioidem Endometriumkarzinom, bei dem der ER β exprimiert wurde, im Vergleich zu den Patientinnen mit Karzinom aber fehlender ER β Expression (Abb. 19) dieser Arbeit bestärkt ebenfalls die positive Wirkung des ER β auf Tumore.

Ein weiterer Aspekt, der für den ER β als Tumorsuppressor sprechen könnte, bezieht sich auf die Immunzellen im Endometrium. T-Zellen, Makrophagen und uterine Natural Killer Zellen (uNK) machen einen großen Anteil aus (Bulmer, Morrison, Longfellow, Ritson, Pace, 1991; Vassiliadou und Bulmer, 1996) und haben eine Schlüsselrolle in der Implantation und Aufrechterhaltung der Schwangerschaft (Blois, Klapp, Barrientos, 2011; Evans, Sany, Pearmain, Ganesan, Blann, Sundar, 2011). Weiter konnten auch uNK-Zellen, die ER β I exprimierten, im Endometrium nicht-schwangerer Frauen nachgewiesen werden. Da Zielstrukturen einer Natural Killer Zelle virusinfizierte – und onkogene Zellen sind, könnten sie über den ER β als Tumorsuppressor in gesundem Endometrium fungieren (Henderson, Saunders, Moffett-King, Groome, Critchley, 2003).

Die gute Prognose des endometrioiden Endometriumkarzinoms in dem Patientenkollektiv mit zeitgleicher Adenomyosis uteri dieser Studie („End-Ca/AU“) könnte aufgrund der höheren Expression des ER β verglichen mit dem alleinigen endometrioiden Endometriumkarzinom („End-CA“) und der durch ihn vermittelten Mechanismen zu erklären sein.

Aufgrund erhöhter ER β -5 Expression in schlecht differenzierten endometrioiden Endometriumkarzinomen ist eine onkogene Wirkung des ER β nicht auszuschließen.

Eine potenziell onkogene Rolle des ER β wird ebenfalls vermutet, da in Studien eine Hochregulation der ER β -5 Kopien in schlecht differenziertem endometrioiden Endometriumkarzinom beobachtet werden konnten. Diese Hochregulation ist mit einer HER2 und MYBL2 Onkogenexpression assoziiert (Häring et al., 2012b; Skrzypczak et al., 2004).

Des Weiteren fanden Ueki et al. in ihrer Studie 2004 eine Assoziation zwischen hoher ER β Expression in Adenomyosis uteri und Expression des bcl-2 Gens, welches als Apoptose-Suppressor Gen bekannt ist. Die konstante bcl-2 Expression zusammen mit dem ER und

hyperestrogenem Metabolismus könnte sowohl die Invagination also auch die Ausbreitung der Adenomyosis Uteri durch das gesamte Myometrium zur Folge haben (Bergeron et al., 2006). Ob sich die potenziell onkogene Wirkung durch eine Suppression der Apoptose jedoch nur auf die Zellen der Adenomyosis auswirkt oder auch Einfluss auf das Endometriumkarzinom hat ist ungeklärt.

In Zusammenschau der Ergebnisse scheint der ER β eine duale Rolle zu spielen und zum einen als Tumorsuppressor in gesundem Endometrium zu fungieren sowie zum anderen als möglicher Tumorpromotor in schlecht differenziertem Endometriumkarzinom zu agieren (Hapangama et al., 2015). Eine abnorme ER Expression wird in einer Menge menschlicher Tumore beobachtet und wird häufig mit Bildung von Metastasen und schlechter Prognose in Verbindung gebracht. Trotz wachsendem Verständnis hinsichtlich der Pathophysiologie und Molekularbiologie der Estrogen Rezeptoren, bleibt es bis heute unklar, wie genau sie zu dem malignen Status beitragen (Hou, Zhao, Wang, Zhang, 2014). Ein hormon-unabhängiges Wachstum in den neoplastischen Drüsen des endometrioiden Endometriumkarzinoms ist zudem nicht auszuschließen (Hsu et al., 2006).

5.6 Thomsen Friedenreich-Antigen

Das TF-Ag (CD176) ist ein tumorassoziiertes Epitop und beinhaltet das Kohlenhydratmolekül Galactose- β 1-3N-acetylgalactosamine (Gal β 1-3GalNAc) (Mylonas et al., 2007). In gesundem Gewebe ist die Mehrzahl der TF-Epitope verdeckt und wird nur während maligner Transformation auf der Zelloberfläche enthüllt. Aus diesem Grund wird das TF-Ag kaum in nicht-neoplastischem Gewebe gefunden und repräsentiert somit einen Gewebe Tumormarker mit einzigartiger Spezifität (Karsten und Goletz, 2013). Physiologischerweise wird das TF-Ag sonst nur auf Throphoblasten (Richter et al., 2000), Syncytiotrophoblasten (Jeschke et al., 2006a) und fetalen Epi- und Mesothelien (Barr, Taylor, Young, Springer, 1989) exprimiert. Viele Studien beschreiben, dass das TF-Ag auf diversen Krebszellen demaskiert zu finden ist, z.B. als Oberflächenepitop auf dem Trägerprotein Mucin 1 (Mylonas et al., 2007). So wurde es bereits auf Zellen des Mammakarzinoms (Goletz, Cao, Danielcyk, Ravn, Schoeber, Karsten, 2003; Imai, Ghazizadeh, Naito, Asabo, 2001; Springer, 1997), des Kolorektalen Karzinoms (Cao, Karsten, Liebrich, Haensch, Springer, Schlag, 1995), des Hepatozellulären Karzinoms (HCC) (Cao, Karsten, Otto, Bannasch, 1999), verschiedener Leukämien (Cao, Merling, Karsten, Goletz, Punzel,

Schwartz-Albiez, 2008) und anderen Krebsarten identifiziert und kann in über 85% der humanen Karzinome gefunden werden (Springer, 1984). Eine Studie von Lin et al. (2011) demonstrierte, dass das TF-Ag auch von krebsinizierenden Zellen (CIC) wie CD44 und CD133 getragen wird (Lin, Karsten, Goletz, Cheng, Cao, 2011). Als funktionelle Einheit auf Krebszellen ist das TF-Ag an dem invasiven und metastatischen Verhalten der Zellen beteiligt (Cao et al., 1995). Da das TF-Ag hauptsächlich auf der Oberfläche von Krebszellen exprimiert wird und in normalem Gewebe nahezu abwesend ist, scheint diese Kohlenhydratstruktur ein geeignetes Ziel in der Krebsdiagnostik und -therapie zu sein und ist somit für die Forschung von großem Interesse (Franco, 2005; Goletz et al., 2003; Springer, 1997). Es hat sich bereits gezeigt, dass Anti-CD176-Antikörper eine Apoptose von Leukämiezellen induzieren konnte (Cao et al., 2008). Zudem konnte gezeigt werden, dass Anti-TF1-Antikörper die Zellproliferation und –migration sowohl in der Zellkultur als auch an Tierversuchen behindern (Almogren, Abdullah, Ghapure, Ferguson, Glinsky, Rittenhouse-Olsen, 2012).

Hinsichtlich einer Prognose bei Patientinnen mit TF-Ag-exprimierendem Krebs gibt es konträre Studien. Während Baldus et al. in ihren Studien 2000 und 2001 der Expression des TF-Ag ein kürzeres krankheitsfreies – und Gesamtüberleben zuschreiben, fanden andere eine Assoziation mit einer günstigeren Prognose (Choufani et al., 1999; Schindlbeck et al., 2007). In unserer Studie ergab sich kein signifikanter Unterschied in der Expression des TF-Ag in den Gruppen „End-Ca“ und „End-CA/AU“. Mit einem p-Wert von 0,058 zeigt sich jedoch eine Tendenz zu einer vermehrten Expression bei den Patientinnen mit endometrioidem Endometriumkarzinom und zeitgleicher Adenomyosis uteri. Obwohl kein statistisch signifikanter Unterschied hinsichtlich der TF-Ag Expression in Abhängigkeit von dem Grading des endometrioiden Endometriumkarzinoms bekannt ist, fanden Mylonas et al. (2007) in ihren Untersuchungen eine verminderte Expression des TF-Ag in schlechter differenzierten Karzinomen (G3) gegenüber den gut differenzierten Karzinomen (G1 und G2). Da in unserem Patientenkollektiv 21 von 22 Frauen der Gruppe „End-CA/AU“ ein G1 Endometriumkarzinom hatten und die Frauen der Gruppe „End-CA“ gut bis schlecht differenzierte (G1-3) Karzinome aufwiesen, erklärt dies vielleicht die vermehrte Expression des TF-Ag in der Gruppe mit endometrioidem Endometriumkarzinom und zeitgleicher Adenomyosis uteri („End-CA/AU“). Aufgrund der Tatsache, dass diese Patientinnen eine bessere Überlebensprognose aufweisen, unterstützt dies eher die Studien von Schindlbeck et al. (2007) und Choufani et al. (1999), die die Expression des TF-Ag mit einer günstigeren Prognose in Verbindung brachten. Eine mögliche Erklärung

liefern ebenfalls Schindlbeck et al. (2007), in dem sie postulieren, dass das TF-Ag eine antitumoröse Immunantwort induziert und somit eine effektivere Immunabwehr des Wirtes ermöglicht. Die verminderte Expression des TF-Ag in schlechter differenzierten Karzinomen (FIGO Stadium III/ IV) unterstützt zum einen den Progress der Erkrankung aufgrund schlechterer Immunabwehr, zum anderen legt es nahe, dass ein anderes Antigen -gal-1- eine Rolle in der weiteren Karzinogenese haben muss (Mylonas et al., 2007). Auf der anderen Seite stehen jedoch Studien von Rittenhouse-Olson (2007) und Ferguson et al. (2014), die dem TF-Ag eine prokanzerogene Wirkung zuschreiben. Sie berufen sich auf die Verminderung der Zellproliferation, Tumorzelladhäsion und -migration durch Anti-TF1-Antikörper. Ob die Adenomyosis uteri einen direkten Einfluss auf die TF-Ag Expression hat bleibt jedoch ungeklärt und es bedarf weiteren Studien, das Verhalten des TF-Ag in adenomyotischen Zellen zu untersuchen.

5.7 Glycodelin

Gd ist ein Glykoprotein aus der Superfamilie der Lipokaine und ist bekannt für seine potente immunsuppressive und kontrazeptive Wirkung (Dell et al., 1995; Flower, 1996). Es ist außerdem unter den Namen Plazentaprotein 14 (PP14) (Bohn, Kraus, Winckler, 1982) und Progesteronabhängiges Endometriumprotein (PAEP) (Joshi, 1987; Kamarainen, Riittinen, Seppälä, Palotie, Anderssin, 1994) bekannt. Der Name PAEP legt nahe, dass die Gd-Sekretion endometrialer Epithelzellen hormongesteuert, speziell durch Progesteron und Progestogen, abläuft (Taylor et al., 1998).

Ausgehend von dem Expressionsort gibt es verschiedene Glykosilierungsformen (Isoformen: GdA, GdC, GdF, GdO, GdS) des Gd. Beispielsweise kommt GdA physiologischerweise vor allem in Fruchtwasser, Dezidua und sekretorischem Endometrium vor (Julkunen, Koistinen, Sjöberg, Rutanen, Wahlström, Seppälä, 1986; Julkunen, 1986; Riittinen, Stenman, Alfthan, Suikkari, Bohn, Seppälä, 1989). Abweichende Gd Expressionen finden sich bei pathologischen Veränderungen, die das Endometrium betreffen, wie bei der Endometriose (Seppälä, Taylor, Koistinen, Milgrom, 2002; Taylor, Lundeen, Giudice, 2002).

Ergebnisse früherer Forschungsgruppen wiesen darauf hin, dass Gd –neben seiner ausgeprägten Rolle in Befruchtungsvorgängen- auch die Angiogenese, die Zelldifferenzierung, das Zellwachstum sowie die Tumorummunologie beeinflusst (Brunnhuber, 2015; Jeschke et al., 2005; Ohta et al., 2008).

Bei Patientinnen mit Endometriumkarzinom war eine mittlere bis hohe Expression des Gd mit einer längeren Überlebenszeit assoziiert (Lenhard et al., 2013). Dieses Ergebnis ist konträr zu der Studie von Wood et al. (1988), die keinerlei Synthese von Gd in malignem Endometrium finden konnten (Wood, Waites, MacVicar, Davidson, Walker, Bell, 1988). Auch korreliert dieses Ergebnis nicht mit den Resultaten der vorliegenden Studie, in der eine höhere Expression des Gd bei den Patientinnen mit alleinigem Endometriumkarzinom (Gruppe „End-CA“) und somit signifikant schlechterem Überleben vorlag, als bei Patientinnen der Gruppe „End-CA/AU“. Der Unterschied hinsichtlich der Gd Expression in den beiden Gruppen war mit einem p-Wert von 0,028 signifikant. Die verminderte Gd Expression bei den Frauen mit zeitgleicher Adenomyosis uteri ist eventuell durch eine über 50-fache Reduktion des Gd im Endometrium bei bestehender Endometriose gegenüber gesunden Kontrollgruppen zum Zeitpunkt der Implantation zu erklären (Kao et al., 2003). Es scheint, als sei die Gd Expression auch während der Karzinogenese des endometrioiden Endometriumkarzinoms in der Gruppe mit paralleler Adenomyosis uteri (End-CA/AU“) konstant niedrig, so dass dadurch ein Überlebensvorteil für dieses Patientenkollektiv resultiert. Eine mögliche Erklärung findet sich aufgrund der Rolle des Gd in der Angiogenese während der Tumor-/ Karzinogenese. Es konnte nachgewiesen werden, dass ein aus der Glycodelinsequenz synthetisch hergestelltes Peptid (Gp) einen großen Beitrag in der Neovaskularisation während der Embryogenese und der Tumorentwicklung hat, in dem es zu vermehrter Zellmigration und Gefäßentstehung (tube formation) führt. Des Weiteren konnte nachgewiesen werden, dass Gp zu einer signifikant erhöhten Expression von VEGF-Proteinen und -mRNA in menschlichen Endometriumkarzinomzellen (RL-95) führt (Song et al., 2001).

Bei der Betrachtung der verschiedenen Studienresultate dürfen die Isoformen des Gd nicht außer Acht gelassen werden. Die inverse Assoziation zwischen bestehender Adenomyosis uteri und Gd Expression bei Patientinnen mit endometrioidem Endometriumkarzinom wurde nur in Proben gefunden, die mit einem unspezifischen Antikörper gegen eine Peptidsequenz des Gd gefärbt wurden, jedoch nicht bei einer Färbung mit einem Anti-Gd A-Antikörper, welcher sehr viel spezifischer wäre (Jeschke et al., 2005, 2006b, 2009).

5.8 Inhibin B

Inhibine sind nicht-steroidale, dimere Polypeptidhormone, die zu der Superfamilie der Transforming Growth Factor-beta (TGF- β) gehören (Kingsley, 1994). TGF- β reguliert sowohl

Diskussion

Zellwachstum als auch –proliferation in normalem und tumorösem endometranen Epithel (Casey und MacDonald, 1996; Gold et al., 1994; Tait, MacDonald, Casey, 1994). Inhibine bestehen aus einer α -Untereinheit und einer von zwei möglichen beta-Untereinheiten (beta A oder beta B) und dimerisieren somit zu Inhibin A (beta A-alpha-Heterodimer) oder Inhibin B (beta B-alpha-Heterodimer) (Mylonas et al., 2003a ; Mylonas I, Winkler L, Jeschke U, Briese V, Friese K, 2003b). Die Synthese der Inhibine und besonders des Inhibin B entsteht hauptsächlich in den Granulosazellen der Primärfollikel im Ovar und ist FSH abhängig (Jaatinen, Penttila, Kaipia, Ekfors, Parvinen, Toppari, 1994; Yamoto, Minami, Nakano, Kobayashi, 1992). Die Inhibine sind jedoch auch selbst Regulationshormone für die Gonadotropin (LH, FSH) – Sekretion (Löffler, 2007, S. 872) und fungieren des Weiteren als Wachstumsfaktoren, die die Zellproliferation und –differenzierung beeinflussen (Ueno, Nishimatsu, Murakami, 1990). Inhibine kommen sowohl in vielen verschiedenen physiologischen als auch in pathologisch veränderten Organen, wie zum Beispiel in Tumoren des Ovars, der Brust, der Plazenta, der Prostata, des Hodens etc., vor (Risbridger, Schmitt, Robertson, 2001). Im Endometrium konnte eine zyklische Expression der verschiedenen Inhibin-Untereinheiten nachgewiesen werden, die auf eine Mitwirkung des Inhibin alpha bei der Implantation sowie eine Beteiligung des Inhibin beta bei der Angiogenese, Dezidualisation und dem Gewebeumbau hinweist (Mylonas et al., 2004a). Eine frühere Studie von Mylonas et al., 2006 zeigte eine höhere Expression der Inhibine, Inhibin A und Inhibin B, in hyperplastischem Endometriumgewebe als in Endometriumkarzinomen. Speziell für Inhibin B konnte eine deutlich höhere Expression in atypischen Hyperplasien als in Endometriumkarzinomen gefunden werden. Das Vorhandensein von Inhibin A und B in diesen Geweben lässt eine wichtige Funktion in der Pathogenese und Karzinogenese des Endometriums vermuten. 2009 fand die Forschungsgruppe um Mylonas zu dem Einfluss von Inhibinen auf die Kanzerogenese auch eine wichtige Rolle der Inhibine bezüglich des Wachstums und der Prognose von Malignomen. So korrelieren die Serumlevel des Inhibins mit der Größe der Tumoren. Dieses Phänomen wird besonders im Fall von Granulosazell-Tumoren deutlich. Für das Endometriumkarzinom erwies sich Inhibin alpha als prognostischer Marker. Bei dem adenosquamösen Endometriumkarzinom, einer Untergruppe des endometrioiden Endometriumkarzinoms, deutet eine fehlende Expression des Inhibin B jedoch auf die Malignität des Karzinoms hin (Gingelmaier et al., 2007). In dieser Studie wurde die Expression des Inhibin B in den beiden Gruppen „End-CA“ und „End-Ca/AU“ untersucht. Es zeigte sich ein ähnliches Expressionsmuster hinsichtlich der Inhibin B

Diskussion

Expression ohne signifikanten Unterschied. Die These, dass eine fehlende Inhibin B Expression für ein eher maligneres Geschehen spricht, kann somit in dieser Arbeit nicht bestätigt werden. Es konnte lediglich gezeigt werden, dass Inhibin B in beiden Gruppen exprimiert wird. Auf welche Weise die Proteine auf die Pathogenese oder die Karzinogenese des Endometriumkarzinoms wirken, bedarf noch weiterer Untersuchungen.

Der genaue Einfluss und Stellenwert der vermehrten oder verminderten Expression der einzelnen Proteine auf die Prognose des endometrioiden Endometriumkarzinoms wird in dieser Studie nicht geklärt und bedarf weiterer Forschung.

6 Zusammenfassung

Das Endometriumkarzinom ist das häufigste Malignom des weiblichen Genitaltraktes sowie das viert häufigste Karzinom der Frau. In vielen histologischen Präparaten konnte zeitgleich eine Adenomyosis uteri gefunden werden. Frühere Studien haben bereits Unterschiede hinsichtlich des Überlebens zwischen Patientinnen mit endometrioidem Endometriumkarzinom mit und ohne zeitgleicher Adenomyosis uteri beschrieben.

Ziel der Arbeit ist die epidemiologische, histologische und immunhistochemische Charakterisierung von endometrioiden Endometriumkarzinomen mit und ohne koexistenter Adenomyosis uteri. Ein besonderes Augenmerk wurde dabei auf den ER β gelegt.

Insgesamt wurden 82 Patientinnen in die Studie eingeschlossen, wobei die 35 Patientinnen mit endometrioidem Endometriumkarzinom und die 22 Patientinnen mit endometrioidem Endometriumkarzinom und zeitgleicher koexistenter Adenomyosis uteri Hauptgegenstand der Untersuchungen waren. Klinische Daten sowie Daten des Follow-ups wurden retrospektiv ausgewertet. Die immunhistochemischen Färbungen erfolgten für ER β und Gd der Gruppe „End-CA / AU“ mittels der HRP Polymer-Methode; Gd der Gruppe „End-CA“, TF-Ag und Inhibin B wurden nach der ABC-Methode gefärbt.

Die Präsenz des ER β ist bei Patientinnen mit reinem endometrioidem Endometriumkarzinom mit einer besseren Überlebensrate assoziiert als bei den Patientinnen, bei denen das Karzinom keinen ER β exprimiert. Die Gd Expression war geringer bei zeitgleicher Adenomyosis uteri. Hinsichtlich der Inhibin B Expression gab es keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Bei koexistent bestehender Adenomyosis uteri wiesen die Patientinnen mit endometrioiden Endometriumkarzinomen ein besseres Überleben sowie einen längeren Zeitraum bis zur Krankheitsprogression auf. Des Weiteren ist das Vorhandensein der Adenomyosis uteri bei solchen Karzinomen mit einem geringeren T-/ FIGO-Stadium, besserer Tumordifferenzierung, vermehrter ER β Expression und Tendenz zur höheren TF-Ag-Expression verbunden als bei endometrioiden Endometriumkarzinomen allein.

Anhang

Vorabpublikationen

Ergebnisse der Promotionsarbeit wurden teilweise in der folgenden Publikation aufgenommen:

September 2017 **Coexistence of Adenomyosis uteri and endometrial cancer is associated with an improved prognosis compared with endometrial cancer only**

Linda Hertlein, Johanna Rath, Christine Zeder-Göss, Sophie Fürst, Daniela Bayer, Fabian Trillsch, Sven Mahner, Alexander Burges, Udo Jeschke

Oncol Lett. 2017; 14 (3): 3302-3308

Anhang

Ergebnistabellen

	Alle Patienten (n = 57)	„End-Ca“ (n = 35)	„End-Ca / AU“ (n = 22)	P-Wert
Alter bei Diagnose (Jahre)				0,987
Median	63,5	63,2	63,9	
Spannweite	36-83	36-83	52-82	
Adipositas, n (%)				0,583
Ja	18 (31,6)	12 (34,3)	6 (27,3)	
Nein	39 (68,4)	23 (65,7)	16 (72,7)	
Diabetes, n (%)				0,946
Ja	8 (14,0)	5 (14,3)	3 (13,6)	
Nein	49 (86,0)	30 (85,7)	19 (86,4)	
Hypertonus, n (%)				0,703
Ja	19 (33,3)	11 (31,4)	8 (36,4)	
Nein	38 (66,7)	24 (68,6)	14 (63,6)	
FIGO-Stadium, n (%)				0,002
I	50 (87,7)	28 (80,0)	22 (100)	
Ia	37 (64,9)	18 (51,4)	19 (86,4)	
Ib	13 (22,8)	10 (28,6)	3 (13,6)	
II	3 (5,3)	3 (8,6)	0	
III	4 (7,0)	4 (11,4)	0	
IV	0	0	0	
Lymphknotenmetastasen, n (%)	2 (3,5)	1 (2,9)	1 (4,5)	
Fernmetastasen, n (%)	0	0	0	
Grading, n (%)				0,001
1	36 (63,2)	16 (45,7)	20 (90,9)	
2	19 (33,3)	18 (51,4)	1 (4,5)	
3	1 (1,8)	1 (2,9)	0	
Unbekannt			1 (4,5)	
Follow Up (Jahre)				
Median	-	7,8	8,9	
Spannweite	-	5-14	4-14	
Mortalität, n (%)	10 (17,5)	8 (22,9)	2 (9,1)	
Kein Follow Up, n (%)	2 (5,7)	2 (5,7)	0	
Gesamtüberleben				0,024
Median (Monate)		142	159	
95% Konfidenzintervall (Monate)		122-163	144-174	
5 Jahresüberleben (%)		82	95	
10 Jahresüberleben (%)		72	95	
Zeit bis zur Progression				0,026
Median (Monate)				

Tabelle 13: Übersichtstabelle der Ergebnisse (1/3)

Anhang

	„End-CA“	„End-CA/ AU“	„phys. End“	„AU“
ER-β Expression	-/+	++	+++	++
Spannweite (IRS)	0-3	0-4	0-8	0-4
Median (IRS)	0	2	2	4
p-Wert				
"End-CA"	x	<0,001	<0,001	<0,001
"End-CA/ AU"	<0,001	x	0,015	0,091
"AU"	<0,001	0,015	x	0,681
"phys. End"	<0,001	0,091	0,681	x
ER-β Expression in Zellen der Adenomyosis		+		++
Spannweite (IRS)		0-4		0-4
p-Wert		0,022		
Überleben in Abhängigkeit der ER-β Expression	IRS = 0	IRS > 0		
5- JÜ (%)	79	100		
10- JÜ (%)	66	100		

Tabelle 14: Übersichtstabelle der Ergebnisse bezogen auf ER-β (2/3)

	„End-CA“	„End-CA / AU „	p-Wert
TF- Ag			0,058
Expression	-/+	++	
Glycodelin			0,028
Expression	+++	++	
Inhibin B			0,316
Expression	++	++	

Tabelle 15: Übersichtstabelle der Ergebnisse bezogen auf TF-Ag, Glycodelin, Inhibin B (3/3)

Material- und Firmenverzeichnis

Gerät	Hersteller
Brutschrank/ Wärmeschrank	Heraeus
Dampfkochtopf vitavit	Fissler
Elektrische Pippettierhilfe Easypet	Eppendorf
Gefrierschränke (-20°C)	Siemens, LIEBHERR
IH-Kamera: 3 CCD Colour Video Camera	JVC
Lichtmikroskop Immunhistochemie Type 307-148.001 514 686	Leitz
Magnetrührer IKA-COMBIMAG RCH	IKA GmbH & Co KG
Mikrotom Hn 40	Reichert- Jung
pH Meter	Schott
Pipette Eppendorf Research	Eppendorf
Vortex Genie 2	Bender & Hobein
Waage Kern 572	Kern & Sohn GmbH
Wasserbad/ Streckbad	Medax
Zentrifuge mini Spin	Eppendorf

Tabelle 16: Geräte

Bezeichnung	Hersteller
AC Adaptor AA P700	JVC
DISKUS Version 4.60.2017#22 3	Carl H. Hilgers Technisches Büro
SPSS Version 23	IBM

Tabelle 17: Verwendete Software

Chemikalie	Bezug
0,1 M Citronensäure	Merck
0,1 M Na-Citrat	Merck
Aqua ad iniectabilia	Braun
Aqua dest	Fa. Noll
Dako Antibody Diluent with Background	Dako
Ethanol 100%	Apothekenbedarf der LMU
Ethanol 50%	Apothekenbedarf der LMU
Ethanol 70%	Apothekenbedarf der LMU
Ethanol 96%	Apothekenbedarf der LMU
KH ₂ PO ₄	Merck
KOH	Merck
Liquid DAB + Substrate Chromogen System	Dako
Methanol	Sigma-Aldrich
Na ₂ HPO ₄	Merck
NaCl	Merck
PBS Dulbecco w/o Ca ²⁺ , w/o Mg ²⁺	Biochrom AG
Saures Hämalun nach Mayer	Waldeck
Shandon Consul Mount/ Eukitt	Thermo Fisher Scientific

Material- und Firmenverzeichnis

Ultra V Block	Thermo Fisher Scientific
Universal Blocking Reagent Power Block	Biogenex
Vectastain Elite ABC mouse IgG Kit	Vector Laboratories
Xylol	Roth

Tabelle 18: Chemikalien

Bezeichnung	Hersteller
Deckgläser	Thermo Fisher Scientific (Menzel Gläser)
Färbegestell	Roth
Färbetrog	Roth
Feuchtkammer	Eigenherstellung
Pippettenspitze Plastik 1ml Safe Seal Tips Premium	Biozym
Pippettenspitze Plastik 10ul, 100ul Tips Premium	Biozym
Pippettenspitze Plastik 5ml epTips Dualfilter	Eppendorf
Super Frost Plus Objektträger	Thermo Fisher Scientific

Tabelle 19: Verbrauchsmaterialien

Literaturverzeichnis

- Almogren A, Abdullah J, Ghapure K, Ferguson K, Glinsky VV, Rittenhouse-Olsen K (2012). *Anti-Thomsen-Friedenreich-Ag (anti-TF-Ag) potential for cancer therapy*. Front Biosci (Schol Ed); 4: 840-863
- Amant F, Moerman P, Neven P, Timmerman D, Van Limbergen E, Vergote I (2005) Endometrial cancer. Lancet 366: 491-505
- American Cancer Society (2016). *Cancer facts & figures 2016*. Verfügbar unter: <http://www.cancer.org/research/cancerfactsstatistics/cancerfactsfigures2016/> [09.06.2016]
- Arnold LL, Meck JM, Simon JA (1995). *Adenomyosis: evidence for genetic cause*. Am J Med Genet; 55: 505–6
- Ascher-Walsh CJ, Tu JL, Du Y, Blanco JS (2003). *Location of adenomyosis in total hysterectomy specimens*. J Am Assoc Gynecol Laparosc; 10(3): 360e362
- Baldus SE, Zirbes TK, Hanisch FG, Kunze D, Shafizadeh ST, Nolden S, Monig SP, Schneider PM, Karsten U, Thiele J, Holscher AH, Dienes HP (2000). *Thomsen-Friedenreich antigen presents as a prognostic factor in colorectal carcinoma: a clinicopathologic study of 264 patients*. Cancer; 88: 1536-1543
- Baldus SE, Zirbes TK, Glossmann J, Fromm S, Hansich FG, Monig SP, Schroder W, Schneider PM, Flucke U, Karsten U, Thiele J, Holscher AH, Dienes HP (2001). *Immunoreactivity of monoclonal antibody BW835 represents a marker of progression and prognosis in early gastric cancer*. Oncology; 61: 147-155
- Barak F, Kalichman L, Gdalevich M, Milgrom R, Laitman Y, Piura B, Lavie O, Gerner O (2013). *The influence of early diagnosis of endometrioid endometrial cancer on disease stage and survival*. Arch Gynecol Obstet; 288: 1361-1364
- Barr N, Taylor CR, Young T, Springer GF (1989). *Are pancarcinoma T and Tn differentiation antigens?* Cancer; 64: 834-841
- Benagiano G, Habiba M, Brosens I (2012): *The pathophysiology of uterine adenomyosis: an update*. Fertil Steril; 98: 572-579
- Benson RC, Sneed VD (1958). *Adenomyosis: a reappraisal of symptomatology*. Am J Obstet Gynecol; 76: 1044e1061
- Berek JS und Hacker NF (2015). Berek and Hacker's Gynecologic Oncology. „6. Auflage“. Alphen aan den Rijn : Wolters Kluwer Health. Seite 392, 403
- Bergeron C, Amant F, Ferenczy A (2006): *Pathology and physiopathology of adenomyosis*. Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology; Vol.20, No.4: 511-521
- Bidus MA, Risinger JI, Chandramouli GV, Dainty LA, Litz J, Berchuck A, Barrett JC, Maxwell GL (2006): *Prediction of lymph node metastasis in patients with endometrioid endometrial cancer using expression microarray*. Clin Cancer Res; 12: 83-88

Literaturverzeichnis

- Bird CC, McElin TW, Malo-Estrella P (1972): *The elusive adenomyosis of the uterus- revisited*. Am J Obstet Gynecol; 112: 583-593
- Blois SM, Klapp BF, Barrientos G (2001). *Decidualization and angiogenesis in early pregnancy: unravelling the functions of DC and NK cells*. J Reprod Immunol; 88: 86-92
- Bohn H, Kraus W, Winckler W (1982). *New soluble placental tissue proteins: their isolation, characterization, localization and quantification*. Placenta Suppl; 4: 67-81
- Bokhman JV (1983). *Two pathogenetic types of endometrial carcinoma*. Gynecol Oncol; 15: 10–17
- Bottner M, Thelen P, Jarry H (2014). *Estrogen receptor beta: tissue distribution and the still largely enigmatic physiological function*. J Steroid Biochem Mol Bio; 139: 245-251
- Brosens I, Brosens JJ, Benagiano G (2012). *The eutopic endometrium in endometriosis: are the changes of clinical significance?* Reprod Biomed Online 2012; 24: 496–502
- Brunnhuber R. (2015). *Der Einfluss von Glycodelin A auf dendritische Zellen und die adaptive Immunantwort*. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München
- Bulmer JN, Morrison L, Longfellow M, Ritson A, Pace D (1991). *Granulated lymphocytes in human endometrium: histochemical and immunohistochemical studies*. Hum Reprod; 6: 791-798
- Bulun SE, Monsavais D, Pavone ME, Dyson M, Xue Q, Attar E, Tokunaga H, Su EJ (2012). *Role of estrogen receptor- β in endometriosis*. Semin Reprod Med; 30: 39-45
- Cao Y, Karsten UR, Liebrich W, Haensch W, Springer GF, Schlag PM (1995). *Expression of Thomsen-Friedenreich-related antigens in primary and metastatic colorectal carcinomas. A reevaluation*. Cancer; Vol.76, No.10: 1700-1708, ISSN 0008-543X
- Cao Y, Karsten U, Otto G, Bannasch P (1999). *Expression of MUC1, Thomsen-Friedenreich antigen, Tn, sialosyl-Tn, and 2,6-linked sialic acid in hepatocellular carcinomas and preneoplastic hepatocellular lesions*. Virchows Arch; Vol.434, No.6: 503-509, ISSN 0945-6317
- Cao Y, Merling A, Karsten U, Goletz S, Punzel M, Schwartz-Albiez R (2008). *Expression of CD175 (Tn), CD175s (sialosyl-Tn), and CD176 (Thomsen-Friedenreich antigen) on malignant human hematopoietic cells*. International Journal of Cancer; Vol.123, No.1: 89-99, ISSN 0020-7136
- Casey ML, MacDonald PC (1996). *The endothelin-parathyroid hormone-related protein vasoactive system in human endometrium: modulation by transforming growth factor- β* . Human Reprod; 11: 62-82
- Chauhan AK, Dhull AK, Singh H (2008): *Carcinoma Endometrium*. Obs & Gynae today; Vol. 13, No. 4
- Choufani G, Nagy N, Saussez S, Marchant H, Bisschop P, Buchert M, Danguy A, Louryan S, Salmon I, Gabius HJ, Kiss R, Hassid S (1999). *The levels of expression of galectin-1, galectin-3, and the Thomsen-Friedenreich antigen and their binding sites decrease as clinical aggressiveness increases in head and neck cancers*. Cancer; 86: 2353-2363
- Christopherson WM, Connelly PJ, Alberhasky RC (1983). *Carcinoma of the endometrium. An analysis of prognosticators in patients with favorable subtypes and stage I disease*. Cancer; 51: 1705-1709

Literaturverzeichnis

- Clement PB, Young RH (1993). *Tumors and tumorlike lesions of the uterine corpus and cervix - Contemporary Issues in surgical pathology*. „Volume 19“. London: Churchill Livingstone
- Colombo N, Preti E, Landoni F, Carinelli S, Colombo A, Marini C, Sessa C (2011). *Endometrial cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up*. *Ann Oncol*; 6: 35-39
- Creasman WT (1997). *Endometrial cancer: incidence, prognostic factors, diagnosis, and treatment*. *Semin Oncol*; 24: S1-140-150
- Creasman WT, Odicino F, Maisonneuve P, Quinn MA, Beller U, Benedet JL, Heintz AP, Ngan HY, Pecorelli S (2006). *Carcinoma of the corpus uteri. FIGO 6th annual report on the results of treatment in gynecological cancer*. *Int J Gynaecol Obstet*; 95: 105-143
- Dell A, Morris HR, Easton RL, Panico M, Patankar M, Oehninger S, Koistinen R, Koistinen H, Seppala M, Clark GF (1995). *Structural analysis of the oligosaccharides derived from glycodelin, a human glycoprotein with potent immunosuppressive and contraceptive activities*. *J.Biol.Chem*; 270 (41): 24116-24126
- Devlieger R, D'Hooghe T, Timmerman D (2003). *Uterine adenomyosis in the infertility clinic*. *Hum Reprod Update*; 9: 139e147
- Dietrich JE (2010). *An update on adenomyosis in the adolescent*. *Curr Opin Obstet Gynecol*; 22: 388–92
- Evans T, Sany O, Pearmain P, Ganesan R, Blann A, Sundar S (2011). *Differential trends in the rising incidence of endometrial cancer by type: data from a UK population-based registry from 1994 to 2006*. *Br J Cancer*; 104: 1505-1510
- Farquhar C, Brosens I (2006). *Medical and surgical management of adenomyosis*. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*; 20: 603–616
- Ferenczy A (1998). *Pathophysiology of adenomyosis*. *Hum Reprod Update*; 4: 312-322
- Ferguson K, Yadav A, Morey S, Abdullah J, Hrysenko G, Eng JY, Sajjad M, Koury S, Rittenhouse-Olson K (2014). *Preclinical studies with JAA-F11 anti-Thomsen-Friedenreich monoclonal antibody for human breast cancer*. *Future Oncol*; 10: 385-399
- Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F (2015). *Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012*. *Int. J. Cancer*; 136: E359-E386
- Flower DR (1996). *The lipocalin protein family: structure and function*. *Biochem.J.*; 318 (Pt 1): 1-14
- Franco A (2005). *CTL-based cancer preventive/therapeutic vaccines for carcinomas: role of tumour-associated carbohydrate antigens*. *Scandinavian Journal Immunology*; Vol.61, No.5: 391-397, ISSN 0300-9475
- Frick HC, Munnell EW, Richart RM, Berger AP, Lawry MF (1973). *Carcinoma of the endometrium*. *Am J. Obstet. Gynecol*; 115: 663-676
- Gaetje R, Kotzian S, Herrmann G, Baumann R, Starzinski-Powitz A (1995). *Invasiveness of endometriotic cells in vitro*. *Lancet*; 346: 1463–4

Literaturverzeichnis

Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (GEKID) (2017). Verfügbar unter: <http://www.gekid.de/Atlas/CurrentVersion/atlas.html> [23.01.2017]

Gingelmaier A, Gutsche S, Mylonas I, Shabani N, Kuhn C, Kunze S, Jeschke U, Friese K (2007). *Expression of HPV, steroid receptors (ERalpha, ERbeta, PR-A, PR-B) and inhibin/activin subunits (alpha, betaA and betaB) in adenosquamous endometrial carcinoma*. *Anticancer Res*; 27: 2011-2017

Giordano G, D'Adda T, Bottarelli L, Lombardi M, Brigati F, Berretta R, Merisio C (2012). *Two cases of low-grade endometrioid carcinoma associated with undifferentiated carcinoma of the uterus (dedifferentiated carcinoma): A molecular study*. *Pathol Oncol Res*; 18: 523-528

Gizzo S, Patrelli TS, Dall'Asta A, Di Gangi S, Giordano G, Migliavacca C, Monica M, Merisio C, Battista Nardelli G, Quaranta M, Noventa M, Berretta R (2016). *Coexistence of adenomyosis and endometrioid endometrial cancer: Role in surgical guidance and prognosis estimation*. *Oncology Letters*; 11: 1213-1219

Gold LI, Saxena B, Mittal KR, Mamor M, Goswami S, Nactigal L, Korc M, Demopoulos RI (1994). *Increased expression of transforming growth factor β isoforms and basic fibroblast growth factor in complex hyperplasia and adenocarcinoma of the endometrium: evidence for paracrine and autocrine action*. *Cancer Res*; 54: 2347-2358

Goletz S, Cao Y, Danielcyk A, Ravn P, Schoeber U, Karsten U (2003). *Thomsen-Friedenreich antigen: the 'hidden' tumor antigen*. *Advances in experimental medicine and biology*; Vol.535: 147-162, ISSN 0065-2598

Gordts S, Brosens JJ, Fusi L, Benagiano G, Brosens I (2008). *Uterine adenomyosis: a need for uniform terminology and consensus classification*. *Reprod Biomed Online*; 17: 244-8

Greaves E, Collins F, Critchley HO, Saunders PT (2013). *ERbeta-dependent effects on uterine endothelial cells are cell specific and mediated via Sp1*. *Hum Reprod*; 28: 2490-2501

Greaves P, White IN (2006). *Experimental adenomyosis*. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*; 20: 503-10

Gupta V, McGunigal M, Prasad-Hayes M, Kalir T, Liu J (2017). *Adjuvant radiation therapy is associated with improved overall survival in high-intermediate risk stage I endometrial cancer: A national cancer data base analysis*. *Gynecol Oncol*; Vol. 144, Issue 1: 119-124

Gustafsson JA (2003). *What pharmacologists can learn from recent advances in estrogen signalling*. *Trends Pharmacol Sci*; 24: 479-485

Haag P, Hanhart N, Müller M (2012/2013). *Gynäkologie und Urologie. Für Studium und Praxis*. „6. Auflage“. Breisach : Medizinische Verlags- und Informationsdienste Breisach. Seite 68

Hall JB, Young RH, Nelson JH (1984). *The prognostic significance of adenomyosis in endometrial carcinoma*. *Gynecol Oncol*; 17: 32-40.

Hall JM, McDonnell DP (2005). *Coregulators in nuclear estrogen receptor action – from concept to therapeutic targeting*. *Mol Interv*; 5: 343-357

Hanley KZ, Dustin SM, Stoler MH, Atkins Ka (2010). *The significance of tumor involved adenomyosis in otherwise low-stage endometrioid adenocarcinoma*. *Int J Gynecol Pathol*; 29: 445-451

Literaturverzeichnis

- Hapangama DK, Kamal AM, Bulmer JN (2015). *Estrogen receptor β : The guardian of the endometrium*. Hum Reprod Update; 21: 174-193
- Häring J, Schüler S, Lattrich C, Ortmann O, Treeck O (2012a). *Role of estrogen receptor β in gynecological cancer*. Gynecol Oncol; 127: 673-676
- Häring J, Skrzypczak M, Stegerer A, Lattrich C, Weber F, Gorse R, Ortmann O, Treeck O (2012b). *Estrogen receptor beta transcript variants associate with oncogene expression in endometrial cancer*. Int J Mol Med; 29: 1127-1136
- Hayata T, Kawashima Y (1987). *Clinicopathologic study of eight cases of uterine body cancers associated with endometriosis interna (uterine adenomyosis)*. Am J Obstet Gynecol; 156: 663-6
- Heckl M, Schmoeckel E, Hertlein L, Rottmann M, Jeschke U, Mayr D (2018). *The ARID 1A, p53, β -Catenin statuses are strong prognosticators in clear cell and endometrioid carcinoma of the ovary and the endometrium*. PLoS ONE 13(2): e0192881.
- Henderson TA, Saunders PT, Moffett-King A, Groome NP, Critchley HO (2003). *Steroid receptor expression in uterine natural killer cells*. J Clin Endocrinol Metab; 88: 440-449
- Hernandez E (1980). *Endometrial adenocarcinoma arising in adenomyosis*. Am J. Obstet. Gynecol; 138: 827-832
- Hill EK, Dizon DS (2012). *Medical therapy of endometrial cancer: current status and promising novel treatments*. Drugs; 72: 705-713
- Horn L-C, Schierle K, Schmidt D, Ulrich U, Liebmann A, Wittekind C (2011). *Aktualisiertes TNM/FIGO-Staging-System für das Zervix- und Endometriumkarzinom sowie maligne Müller'sche Mischtumoren (MMMT) des Uterus. Fakten und Hintergrund*. Pathologe; 32 (3): 239-43
- Hou X, Zhao M, Wang T, Zhang G (2014). *Upregulation of estrogen receptor mediates migration, invasion and proliferation of endometrial carcinoma cells by regulating the PI3K/AKT/mTOR pathway*. Oncology Reports; 31: 1175-1182
- Hsu M-I, Chou S-Y, Lin S-E, Liang S-Y, Chiu H-C, Hsu C-S (2006). *Very early stage Adenocarcinoma arising from adenomyosis in the uterus*. Taiwanese J. Obstet. Gynecol; Vol.45. No 4: 346-349
- Hu K, Zhong G, He F (2005). *Expression of estrogen receptors ER(alpha) and ER(beta) in endometrial hyperplasia and adenocarcinoma*. Int J Gynecol Cancer; 15: 537-541
- Huang TS, Chen YJ, Chou TY, Chen CY, Li HY, Huang BS, Tsai HW, Lan HY, Chang CH, Twu NF, Yen MS, Wang PH, Chao KC, Lee CC, Yang MH (2014). *Oestrogen-induced angiogenesis promotes adenomyosis by activating the Slug-VEGF axis in endometrial epithelial cells*. J Cell Mol Med; 18: 1358-1371
- Imai J, Ghazizadeh M, Naito Z, Asano G (2001). *Immunohistochemical expression of T, Tn and sialyl-Tn antigens and clinical outcome in human breast carcinoma*. Anticancer Research; Vol.21, No.2B: 1327-1334, ISSN 0250-7005
- Interdisziplinäre S2k-Leitlinie für die Diagnostik und Therapie der Endometriose (2013). Verfügbar unter: http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/015-045l_S2k_Diagnostik_Therapie_Endometriose_2013-10-verlaengert.pdf. [13.05.2018]

Literaturverzeichnis

- Ismail N, Rasty G, Ghorab Z, Nofech-Mozes S, Bernardini M, Ackerman I, Thomas G, Covens A, Khalifa MA (2007). *Adenomyosis is associated with myometrial invasion by FIGO 1 endometrial adenocarcinoma*. Int J Gynecol Pathol; 26: 278-83
- Jaatinen TA, Penttila TL, Kaipia A, Ekfors T, Parvinen M, Toppari J (1994). *Expression of inhibin alpha, beta A and beta B messenger ribonucleic acids in the normal human ovary and in polycystic ovarian syndrome*. J Endocrinol; 143(1): 127-137
- Jacobs I, Gentry-Maharaj A, Burnell M, Manchanda R, Singh N, Sharma A, Ryan A, Seif MW, Amso NN, Turner G, Brunell C, Fletcher G, Rangar R, Ford K, Godfrey K, Lopes A, Oram D, Herod J, Williamson K, Scott I, Jenkins H, Mould T, Woolas R, Murdoch J, Dobbs S, Leeson S, Cruickshank D, Skates SJ, Fallowfield L, Parmar M, Campbell S, Menon U (2011). *Sensitivity of transvaginal ultrasound screening for endometrial cancer in postmenopausal women: a case-control study within the UKCTOCS cohort*. Lancet Oncol; 12: 38-48
- Jacques SM, Lawrence WD (1990). *Endometrial adenocarcinoma with variable-level myometrial involvement limited to adenomyosis: a clinicopathologic study of 23 cases*. Gynecol Oncol; 37: 401-7
- Jeschke U, Bischof A, Speer R, Briese V, Richter DU, Bergemann C, Mylonas I, Shabani N, Friese K, Karsten U (2005). *Development of monoclonal and polyclonal antibodies and an ELISA for the determination of glycodelin in human serum, amniotic fluid and cystic fluid of benign and malignant ovarian tumors*. Anticancer Res; 25: 1581-1589
- Jeschke U, Karsten U, Wiest I, Schulze S, Kuhn C, Friese K, Walzel H (2006a). *Binding of galectin-1 (gal-1) to the Thomsen-Friedenreich (TF) antigen on trophoblast cells and inhibition of proliferation of trophoblast tumor cells in vitro by gal-1 or an anti-TF antibody*. Histochemistry and Cell Biology; 126(4): 437-444
- Jeschke U, Kuhn C, Mylonas I, Schulz S, Friese K, Mayr D, Speer R, Briese V, Richter DU, Haase M, Karsten U (2006b). *Development and characterization of monoclonal antibodies for the immunohistochemical detection of glycodelin A in decidual, endometrial and gynaecological tumor tissues*. Histopathology; 48: 394-406
- Jeschke U, Mylonas I, Kunert-Keil C, Stahn R, Scholz C, Janni W, Kuhn C, Schröder E, Mayr D, Friese K (2009). *Immunohistochemistry, glycosylation and immunosuppression of glycodelin in human ovarian cancer*. Histochem Cell Biol; 131: 283-295
- Joshi SG (1987). *Progesterin-dependent human endometrial protein: a marker for monitoring human endometrial function*. Adv.Exp.Med.Biol; 230: 167-186
- Julkunen M (1986). *Human decidua synthesizes placental protein 14 (PP14) in vitro*. Acta Endocrinol; 112 (2): 271-277
- Julkunen M, Koistinen R, Sjöberg J, Rutanen EM, Wahlström T, Seppälä M (1986). *Secretory endometrium synthesizes placental protein 14*. Endocrinology; 118 (5): 1782-1786
- Kamarainen M, Riittinen L, Seppala M, Palotie A, Anderssin LC (1994). *Progesterone-associated endometrial protein-a constitutive marker of human erythroid precursors*. Blood; 84 (2): 467-473
- Kao LC, Germeyer A, Tulac S, Lobo S, Yang JP, Taylor RN, Osteen K, Lessey BA, Giudice LC (2003). *Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease-based implantation failure and infertility*. Endocrinology; 144 (7): 2870-2881
- Karsten U, Goletz S (2013). *What makes cancer stem cell markers different?* Springerplus; 2: 301

Literaturverzeichnis

- Katzenellenbogen BS (1984). *Biology and receptor interactions of estriol and estriol derivatives in vitro and in vivo*. J Steroid Biochem; 20: 1033-1037
- Khunnarong J, Tangjitgamol S, Srijaipracharoen S (2016). *Other Gynecologic Pathology in Endometrial Cancer Patients*. Asian Pac J Cancer Prev; 17 (2): 713-717
- Kissler S, Zangos S, Kohl J, Wiegratz I, Rody A, Gatje R, Vogl TJ, Kunz G, Leyendecker G, Kaufmann M (2008). *Duration of dysmenorrhea and extent of adenomyosis visualised by magnetic resonance imaging*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol; 137: 204–9
- Klöppel G, Kreipe HH, Remmele W (Hrsg.). (2013). *Pathologie: Mamma, Weibliches Genitale, Schwangerschaft und Kindererkrankungen*. „3. Auflage“. Berlin : Springer. Seite 359
- Kingsley DM (1994). *The TGF-beta superfamily: new members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms*. Genes Dev; 8(2): 133-146
- Kitawaki J (2006). *Adenomyosis: the pathophysiology of an oestrogen-dependent disease*. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol; 20: 493–502.
- Koshiyama M, Okamoto T, Ueta M (2004). *The relationship between endometrial carcinoma and coexistent Adenomyosis uteri, endometriosis externa and myoma uteri*. Cancer Detection and Prevention; 28: 94-98
- Koss L, Schreiber K, Oberlander S, Levine HS, Moussouris HF (1981). *Screening of asymptomatic women for endometrial cancer*. CA Cancer J Clin; 31: 300-17
- Kricka LJ, Wild D (2005). Signal Generation and Detection Systems (Excluding Homogeneous Assays). In D. Wild (Hrsg.), *Aus dem Handbuch: The Immunoassay Handbook* (S. 205). „3. Auflage“. Amsterdam : Elsevier Verlag.
- Kucera E, Hejda V, Dankovcik R, Valha P, Dudas M, Feyereisl J (2011). *Malignant changes in ad- enomyosis in patients with endometrioid adenocarcinoma*. Eur J Gynaecol Oncol; 32: 182-4.
- Kunz G, Herbertz M, Beil D, Huppert P, Leyendecker G (2007). *Adenomyosis as a disorder of the early and late human reproductive period*. Reprod Biomed Online; 15: 681–5
- Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH (2014). *WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs*. „4. Auflage“. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC). Seite 128
- Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH (2014). International Agency for Research on Cancer. *World Health Organization WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs*. France: Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2014
- Lax SF, Kurman RJ (1997). *A dualistic model for endometrial carcinogenesis based on immunohistochemical and molecular genetic analyses*. Verh Dtsch Ges Pathol; 81: 228–232
- Lax SF (2004). *Molecular genetic pathways in various types of endometrial carcinoma: From a phenotypical to a molecular-based classification*. Virchows Arch; 444: 213–223
- Lax SF (2014). Meeting of the working group on gynecological and breast pathology 2014. Pathologe; 35 (2): 284-6
- Lax SF (2016). *Neues in der WHO-Klassifikation 2014 der Tumore des Corpus uteri*. Pathologe; 37: 500-511

Literaturverzeichnis

- Lecce G, Meduri G, Ancelin M, Bergeron C, Perrot-Appanat M (2001). *Presence of estrogen receptor beta in the human endometrium through the cycle: expression in glandular, stromal, and vascular cells*. J Clin Endocrinol Metab; 86: 1379-1386
- Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): Diagnostik, Therapie und Nachsorge der Patientinnen mit Endometriumkarzinom, Kurzversion 1.0, 2018, AWMF Registernummer: 032/034-OL, <http://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/endometriumkarzinom/> (abgerufen am 13.05.2018).
- Lenhard M, Heublein S, Kunert-Keil C, Vrekoussis T, Lomba I, Ditsch N, Mayr D, Friese K, Jeschke U (2013). *Immunosuppressive Glycodelin A is an independent marker for poor prognosis in endometrial cancer*. BMC Cancer; 13: 616
- Lin WM, Karsten U, Goletz S, Cheng RC, Cao Y (2011). *Expression of CD176 (Thomsen-Friedenreich antigen) on lung, breast and liver cancer-initiating cells*. Int J Pathol; 92: 97-105
- Löffler, G (Ed.) (2007). *Biochemie und Pathobiochemie*. „8. Auflage“, S. 872. Heidelberg : Springer
- Matsuo K, Cahoon SS, Gualtieri M, Scannell CA, Jung CE, Takano T, Paulson RJ, Muderspach LI, Roman LD (2014). *Significance of adenomyosis on tumor progression and survival outcome of endometrial cancer*. Ann Surg Oncol; 21 (13): 4246-55
- Matsuo K, Moeini A, Machida H, Scannell CA, Casabar JK, Kakuda M, Adachi S, Garcia-Sayre J, Ueda Y, Roman LD (2016). *Tumor characteristics and survival outcome of endometrial cancer arising in adenomyosis: an exploratory Analysis*. Ann Surg Oncol; 23 (3): 959-67
- Mehasseb MK, Bell SC, Habiba MA (2010). *Neonatal administration of tamoxifen causes disruption of myometrial development but not adenomyosis in the C57/BL6J mouse*. Reproduction; 139: 1067–75
- Mehasseb MK, Panchal R, Taylor AH, Brown L, Bell SC, Habiba M (2011). *Estrogen and progesterone receptor isoform distribution through the menstrual cycle in uteri with and without adenomyosis*. Fertility and Sterility; Vol.95, No.7: 2228-2235
- Meyer LA, Bohlke K, Powell MA, Fader AN, Franklin GE, Lee LJ, Matei D, Coallier L, Wright AA (2015). *Postoperative radiation therapy for endometrial cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline endorsement of the American Society for Radiation Oncology evidence-based guideline*. J. Clin. Oncol; 33: 2908–2913
- Mittal KR, Barwick KW (1993). *Endometrial adenocarcinoma involving adenomyosis without true myometrial invasion is characterized by frequent preceding estrogen therapy, low histologic grades, and excellent prognosis*. Gynecol Oncol; 49: 197-201.
- Morice P, Leary A, Creutzberg C, Abu-Rustum N, Darai E (2015). *Endometrial cancer*. Lancet; 387: 1094–1108
- Musa F, Frey MK, Im HB, Chekmareva M, Ellenson LH, Holcomb K (2012). *Does the presence of adenomyosis and lymphovascular space invasion affect lymph node status in patients with endometrioid adenocarcinoma of the endometrium?* Am J Obstet Gynecol; 207: 417.e1-6
- Mylonas I, Jeschke U, Winkler L, Makovitzky J, Richter DU, Briese V, Friese K (2003a). *Immunohistochemical expression of inhibin-alpha in human endometrium and the in vitro secretion of inhibin, estradiol and cortisol in cultured human endometrial glandular cells*. Arch Gynecol Obstet; 268: 142-150

Literaturverzeichnis

- Mylonas I, Winkler L, Jeshcke U, Briese V, Friese K (2003b).** *Investigations on isolation purification and cultivation of human endometrial cells and on the in vitro inhibin expression in glandular epithelial cells.* Zentralbl Gynakol; 125: 415-423
- Mylonas I, Jeschke U, Shabani N, Kuhn C, Balle A, Kriegel S, Kupka MS, Friese K (2004a).** *Immunohistochemical analysis of estrogen receptor alpha, estrogen receptor beta and progesterone receptor in normal human endometrium.* Acta Histochem; 106(3): 245-52
- Mylonas I, Jeschke U, Wiest I, Hoeing A, Vogl J, Shabani N, Kuhn C, Schulze S, Kupka MS, Friese K (2004b).** *Inhibin/activin subunits alpha, beta-A and beta-B are differentially expressed in normal human endometrium throughout the menstrual cycle.* Histochem Cell Biol; 122(5): 461-471
- Mylonas I, Makovitzky J, Hoeing A, Richter DU, Vogl J, Schulze S, Jeschke U, Briese V, Friese K (2006).** *Inhibin/activin localised in normal, hyperplastic and malignant endometrial tissue.* Acta Histochem 2006; 108: 1-11
- Mylonas I, Mayr D, Walzel H, Shabani N, Dian D, Kuhn C, Kunze S, Jeschke U, Friese K (2007).** *Mucin 1, Thomsen-Friedenreich Expression and Galectin-1 Binding in Endometrioid Adenocarcinoma: An Immunohistochemical Analysis.* Anticancer Research; 27: 1975-1980
- Mylonas I, Worbs S, Shabani N, Kuhn C, Kunze S, Schulze S, Dian D, Gingelmaier A, Schindlbeck C, Bruning A, Sommer H, Jeschke U, Friese K (2009).** *Inhibin-alpha subunit is an independent prognostic parameter in human endometrial carcinomas: analysis of inhibin/activin-alpha, -betaA and -betaB subunits in 302 cases.* European journal of cancer; Vol. 45 No. 7: 1304-1314
- Narkar M, Kholkute S, Chitlange S, Nandedkar T (2006).** *Expression of steroid hormone receptors, proliferation and apoptotic markers in primate endometrium.* Mol Cell Endocrinol; 246: 107-113
- National Cancer Institute (2017). *SEER Cancer Stat Facts: Endometrial Cancer.* Verfügbar unter: <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/corp.html> [23.01.2017]
- Nikkanen V, Punnonen R (1980).** *Clinical significance of adenomyosis.* Ann Chir Gynaecol; 69: 278e280
- Nishida M (1991).** *Relationship between the onset of dysmenorrhea and histologic findings in adenomyosis.* Am J Obstet Gynecol; 165: 229e231
- Noll S, Schaub-Kuhnen S (2000).** *Praxis der Immunhistochemie.* München : Urban und Fischer Verlag
- Ohta K, Maruyama T, Uchida H, Ono M, Nagashima T, Arase T, et al. (2008).** *Glycodelin blocks progression to S phase and inhibits cell growth: a possible progesterone-induced regulator for endometrial epithelial cell growth.* Mol Hum Reprod; 14: 17-22
- Ota H, Igarashi S, Hatazawa J, Tanaka T (1998).** *Is adenomyosis an immune disease.* Hum Reprod Update; 4: 360-367
- Otsuki Y, Misaki O, Sugimoto O, Ito Y, Tsujimoto Y, Akao Y (1994).** *Cyclic bcl-2 gene expression in human uterine endometrium during menstrual cycle.* Lancet; 344: 28e29
- Ouldamer L, Rossard L, Arbion F, Marret H, Body G (2014).** *Risk of incidental finding of endometrial cancer at the time of hysterectomy for benign condition.* J Minim Inv Gynecol; 21: 131-5

Literaturverzeichnis

- Parazzini F, LaVecchia C, Bocciolone L, Franceschi S (1991). *The epidemiology of endometrial cancer*. Gynecol Oncol; 41: 1–16.
- Park E, Gong EY, Romanelli MG, Lee K (2012). *Suppression of estrogen receptor- α transactivation by thyroid transcription factor-2 in breast cancer cells*. Biochem Biophys Res Commun; 421: 532-537
- Park H, Kim SH, Cho YM, Ihm HJ, Oh YS, Hong SH, Chae HD, Kim CH, Kang BM (2016). *Increased expression of nuclear factor kappa-B p65 subunit in adenomyosis*. Obstetrics and Gynecology Science; 59 (2): 123-129
- Paruthiyil S, Parmar H, Kerekatte V, Cunha GR, Firestone GL, Leitman DC (2004). *Estrogen receptor beta inhibits human breast cancer cell proliferation and tumor formation by causing a G2 cell cycle arrest*. Cancer Res; 64: 423-428
- Paul M, Cholewa K, Mazurek U, Witek A, Wilczok T (2004). *Estrogen receptor beta delta 6 (ER β delta 6) isoform in human endometrial hyperplasia and adenocarcinoma*. Cancer Invest; 22: 211-218
- Prat J (2004). *Prognostic parameters of endometrial carcinoma*. Hum Pathol; 35: 649-462
- Rassow J, Hauser K, Netzker R, Deutzmann R (2008). *Duale Reihe: Biochemie. „2. Auflage“*. Stuttgart : Georg Thieme Verlag KG. Seite 605
- Remmeler W, Stegner HE (1987). *Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue*. Pathologe; 8: 138-140
- Richter DU, Jeschke U, Makovitsky J, Goletz S, Karsten U, Briese V, Friese K (2000). *Expression of the Thomsen-Friedenreich (TF) antigen in the human placenta*. Anticancer Research; 20: 5129-5133
- Riittinen L, Stenman UH, Alfthan H, Suikkari AM, Bohn H, Seppälä M (1989). *Time-resolved immunofluorometric assay for placental protein 14*. Clin.Chim.Acta; 183 (2): 115-123
- Risbridger GP, Schmitt JF, Robertson DM (2001). *Activins and inhibins in endocrine and other tumors*. Endocr Rev; 22(6): 836-858
- Rittenhouse-Olson K (2007). *Jaa-f11: extending the life of mice with breast cancer*. Expert Opin Biol Ther; 7: 923-928
- Schindlbeck C, Jeschke U, Schulze S, Karsten U, Janni W, Rack B, Krajewski S, Sommer H, Friese K (2007). *Prognostic impact of Thomsen-Friedenreich tumor antigen and disseminated tumor cells in the bone marrow of breast cancer patients*. Breast Cancer Res Treat; 101: 17-25
- Seidman JD, Kjerulff KH (1996). *Pathologic findings from the Maryland Women's Health Study: practice patterns in the diagnosis of adenomyosis*. Int J Gynecol Pathol; 15: 217e221
- Seppälä M, Taylor RN, Koistinen R, Milgrom E (2002). *Glycodelin: a major lipocalin protein of the reproductive axis with diverse actions in cell recognition and differentiation*. Endocr Rev; 23: 401-430
- Shabani N, Kuhn C, Kunze S, Schulze S, Mayr D, Dian D, Gingelmaier A, Schindlbeck C, Willgeroth F, Sommer H, Jeschke U, Friese K, Mylonas I (2007). *Prognostic significance of estrogen receptor alpha (ER α) and beta (ER β), progesterone receptor A (PR-A) and B (PR-B) in endometrial carcinomas*. European Journal of Cancer; 43: 2434-2444

Literaturverzeichnis

Sherman ME, Bur ME, Kurman RJ (1995). *p53 in endometrial cancer and its putative precursors: evidence for diverse pathways of tumorigenesis*. Human Pathol; 26 (11): 1268-74

Sigma-Aldrich (2016), Verfügbar unter <http://www.sigmaaldrich.com/life-science/cell-biology/antibodies/prestige-antibodies/immunohistochemistry.html> [30.10.2016]

Silvestri A, Fraser HM (2007). *Estrogen and progesterone receptors in the marmoset endometrium: changes during the ovulatory cycle, early pregnancy and after inhibition of vascular endothelial growth factor, GnRH or ovariectomy*. Reproduction; 134: 341-353

Skrzypczak M, Bieche I, Szymczak S, Tozlu S, Lewandowski S, Girault I, Radwanska K, Szczylik C, Jakowicki JA, Lidereau R, Kaczmarek L (2004). *Evaluation of mRNA expression of estrogen receptor beta and its isoforms in human normal and neoplastic endometrium*. Int J Cancer; 110: 783-787

Smith-Bindman R, Kerlikowske K, Feldstein VA, Subak L, Scheidler J, Segal M, Brand R, Grady D (1998). *Endovaginal ultrasound to exclude endometrial cancer and other endometrial abnormalities*. JAMA; 280: 1510-7

Smuc T, Rizner TL (2009). *Aberrant pre-receptor regulation of estrogen and progesterone action in endometrial cancer*. Mol Cell Endocrinol; 301: 74-82

Song M, Ramaswamy S, Ramachandran S, Flowers LC, Horowitz IR, Rock JA, Parthasarathy S (2001). *Angiogenic role for glycodelin in tumorigenesis*. Proc Natl Acad Sci; 98: 9265-9270

de Souza NM, Brosens JJ, Schwieso JE, Paraschos T, Winston RM (1995). *The potential value of magnetic resonance imaging in infertility*. Clin Radiol; 50: 75-9

Springer GF (1984). *T and Tn, general carcinoma autoantigens*. Science; 224: 1198-206

Springer GF (1997). *Immunoreactive T and Tn epitopes in cancer diagnosis, prognosis, and immunotherapy*. Journal of Molecular Medicine; Vol.75, No.8: 594- 602, ISSN 0946-2716

Streuli I, Dubuisson J, Santulli P, de Ziegler D, Batteux F, Chapron C (2014). *An update on the pharmacological management of adenomyosis*. Expert Opin Pharmacother; 15: 2347-2360

Tait DL, Macdonald PC, Casey ML (1994). *Parathyroid hormone related protein expression in gynecic squamous carcinoma cells*. Cancer; 73: 1515-1521

Taylor RN, Savouret JF, Vaisse C, Vigne JL, Ryan I, Hornung D, Seppälä M, Milgrom E (1998). *Promegestone (R5020) and mifepristone (RU486) both function as progestational agonists of human glycodeilin gene expression in isolated human epithelial cells*. J.Clin.Endocrinol.Metab; 83 (11): 4006-4012

Taylor RN, Lundeen SG, Giudice LC (2002). *Emerging role of genomics in endometriosis research*. Fertil Steril 2002; 78: 694-698

Temkin SM, Fleming G (2009). *Current treatment of metastatic endometrial cancer*. Cancer Control; 16: 38-45

Tumorregister München (2016). *ICD-10 C54: Corpuskarzinom - Inzidenz und Mortalität*. Verfügbar unter: http://www.tumorregister-muenchen.de/facts/base/bC54__G-ICD-10-C54- Corpuskarzinom-Inzidenz-und-Mortalitaet.pdf [13.04.2016]

Literaturverzeichnis

- Uduwela AS, Perera MAK, Aiquig L, Fraser IS (2000). *Endometrialemyometrial interface: relationship to adenomyosis and changes in pregnancy*. *Obstet Gynecol Survey*; 55(6): 390e400
- Ueki K, Kumagai K, Yamashita H, Li ZL, Ueki M, Otsuki Y (2004). *Expression of apoptosis-related proteins in adenomyotic uteri treated with danazol and GnRH agonists*. *Int J Gynecol Pathol*; 23: 248-58
- Ueno N, Nishimatsu S, Murakami K (1990). *Activin as a cell differentiation factor (review)*. *Prof Growth Factor Res*; 2: 113-124
- Vassiliadou N, Bulmer JN (1996). *Quantitative analysis of T lymphocyte subsets in pregnant and nonpregnant human endometrium*. *Biol Reprod*; 55: 1017-1022
- Vercellini P, Frontino G, De Giorgi O, Pietropaolo G, Pasin R, Crosignani PG (2003). *Continuous use of an oral contraceptive for endometriosis-associated recurrent dysmenorrhea that does not respond to a cyclic pill regimen*. *Fertil Steril*; 80(3): 560-3
- Vercellini P, Vigano P, Somigliana E, Daguati R, Abbiati A, Fedele L (2006). *Adenomyosis: epidemiological factors*. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*; 20: 465–77
- Wang F, Li H, Yang Z, Du X, Cui M, Wen Z (2009). *Expression of interleukin-10 in patients with adenomyosis*. *Fertil Steril*; 91: 1681–1685
- Wittekind C, Meyer H (2010). *TNM: Klassifikation maligner Tumoren*. „7. Auflage“. Weinheim : Wiley Verlag
- Wood PL, Waites GT, MacVicar J, Davidson AC, Walker RA, Bell SC (1988). *Immunohistological localization of pregnancy-associated endometrial alpha 2-globulin (alpha 2-PEG) in endometrial adenocarcinoma and effect of medroxyprogesterone acetate*. *Br J Obstet Gynaecol*; 95: 1292-1298
- Yamoto M, Minami S, Nakano R, Kobayashi M (1992). *Immunohistochemical localization of inhibin/activin subunits in human ovarian follicles during the menstrual cycle*. *J Clin Endocrinol Metab*; 74(5): 989-993
- Zaino R, Whitney C, Brady MF, DeGeest K, Burger RA, Buller RE (2001). *Simultaneously detected endometrial and ovarian carcinomas: a prospective clinicopathologic study of 74 cases: a gynecologic oncology group study*. *Gynecol Oncol*; 83: 355-62
- Zaloudek C, Norris HJ (1989). *Mesenchymal tumors of the uterus*. In RJ Kurman (Hrsg.), *Blaustein's pathology of the female genital tract* (S. 373-408). „3. Auflage“. Berlin: Springer-Verlag
- Zentrum für Krebsregisterdaten (ZfKD) im Robert Koch-Institut in Berlin (2017). Verfügbar unter: http://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2015/kid_2015_c54_c55_gebaermutterkoerper.pdf?__blob=publicationFile [23.01.2017]
- Zhou S, Yi T, Liu R, Bian C, Qi X, He X, Wang K, Li J, Zhao X, Huang C, Wei Y (2012). *Proteomics identification of annexin A2 as a key mediator in the metastasis and proangiogenesis of endometrial cells in human adenomyosis*. *Mol Cell Proteomics*; 11: M112
- Zimmermann A, Bernuit D, Gerlinger C, Schaeffers M, Geppert K (2012). *Prevalence, symptoms and management of uterine fibroids: an international internet-based survey of 21,746 women*. *BMC Women's Health*; 12: 6–8
- ZytoMed Systems: ZytoChem-Plus HRP Polymer-Kit. *Gebrauchsanweisung*.

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Charakteristika der Typ1- und Typ2-Endometriumkarzinome	2
Tabelle 2: Nebenbefunde bei Patientinnen mit Adenomyosis uteri.....	14
Tabelle 3: TNM Klassifikation 1988 vs. 2010.....	22
Tabelle 4: FIGO-Stadium entsprechend T-Stadium.....	22
Tabelle 5: Patientinnenkollektive und Volkskrankheiten.....	23
Tabelle 6: Übersicht der Patientinnenkollektive	25
Tabelle 7: Primärantikörper	31
Tabelle 8: Sekundärantikörper	31
Tabelle 9: Färbungsmethoden für entsprechendes Antigen	32
Tabelle 10: Positivkontrollen für das Antigen	32
Tabelle 11: Immunoreactive Score (IRS)	33
Tabelle 12: Unterschiede (p-Werte) bezüglich der ER β Expression in den Patientenkollektiven	39
Tabelle 13: Übersichtstabelle der Ergebnisse (1/3)	64
Tabelle 14: Übersichtstabelle der Ergebnisse bezogen auf ER- β (2/3)	65
Tabelle 15: Übersichtstabelle der Ergebnisse bezogen auf TF-Ag, Glycodelin, Inhibin B (3/3) ..	65
Tabelle 16: Geräte	66
Tabelle 17: Verwendete Software.....	66
Tabelle 18: Chemikalien	67
Tabelle 19: Verbrauchsmaterialien	67

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Prozentuale Anteile neu diagnostizierter Malignome in den Vereinigten Staaten (2016).....	3
Abbildung 2: Wahrscheinlichkeit, ein invasives Endometriumkarzinom zu entwickeln in Abhängigkeit vom Alter	4
Abbildung 3: Verteilung der Patientinnen mit Endometriumkarzinom nach Erkrankungsalter. Daten aus dem Tumorregister München (TRM) verglichen mit Daten des Surveillance, Epidemiology, and End Results Program (SEER)	5
Abbildung 4: Prozentualer Anteil der tumorassoziierten Sterbefälle in den Vereinigten Staaten (2016).....	6
Abbildung 5: 5-Jahres Überleben in Abhängigkeit der Tumorausbreitung bei Diagnosestellung	10
Abbildung 6: Klinik der Adenomyosis uteri	14
Abbildung 7: Altersverteilung beider Gruppen (1 „End-CA“ und 2 „End-Ca/ AU“) im Vergleich	24
Abbildung 8: ABC-Methode.....	28
Abbildung 9: ZytoChem-Plus HRP Polymer Methode.	29
Abbildung 10: Kaplan-Meier-Kurve zur Darstellung des Gesamtüberlebens der beiden Gruppen „End-CA“ und „End-CA/ AU“	35
Abbildung 11: Boxplot zum Vergleich des T-Stadiums der beiden Patientenkollektive	36
Abbildung 12: Boxplot zur Darstellung des Gradings in den Patientenkollektiven	37
Abbildung 13: Boxplot zum Vergleich der ER β Expression.	38
Abbildung 14: Endometriumkarzinom (Gruppe „End-CA“), ER β : IRS 0, (10x / 25x Vergrößerung)	39
Abbildung 15: Endometriumkarzinom (Gruppe „End-CA/ AU“), ER β : IRS 2, (10x / 25x Vergrößerung)	40
Abbildung 16: physiologisches Endometrium (Gruppe „phys. End“) in der Proliferationsphase, ER β : IRS 8, (10x/ 25x Vergrößerung)	40
Abbildung 17: Adenomyosis uteri (Gruppe „AU“), ER β : IRS 4, (10x/ 25x Vergrößerung).....	41
Abbildung 18: Boxplot zur Darstellung des IRS in der Adenomyosis uteri in den Gruppen „End-CA/ AU“ und „AU“	41
Abbildung 19: Kaplan Meier Kurve zur Darstellung des Überlebens in Abhängigkeit der ER β -Expression bei den Patientinnen mit Endometriumkarzinom („End-CA“).....	42
Abbildung 20: Boxplot zur Darstellung der Expression des Thomsen-Friedenreich-Antigens in den Gruppen „End-CA“ und „End-CA/ AU“	43
Abbildung 21: Endometriumkarzinom (Gruppe „End-CA“), TF-Ag: IRS 0, (10x / 25x Vergrößerung)	44

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 22: Endometriumkarzinom (Gruppe „End-CA/ AU“), TF-Ag: IRS 4, (10x / 25x Vergrößerung)	44
Abbildung 23: Boxplot zur Darstellung der Expression von Gd in den Gruppen „End-CA“ und „End-CA/ AU“	45
Abbildung 24: Endometriumkarzinom (Gruppe „End-CA“), Glycodelin: IRS 6, (10x / 25x Vergrößerung)	46
Abbildung 25: Endometriumkarzinom (Gruppe „End-CA/ AU“), Glycodelin: IRS 4, (10x / 25x Vergrößerung)	46
Abbildung 26: Boxplot zur Darstellung der Expression von Inhibin B in den Gruppen „End-CA“ und „End-CA/ AU“	47
Abbildung 27: Endometriumkarzinom (Gruppe „End-CA“), Inhibin B: IRS 8, (10x / 25x Vergrößerung)	48
Abbildung 28: Endometriumkarzinom (Gruppe „End-CA/ AU“), Inhibin B: IRS 8, (10x / 25x Vergrößerung)	48

Eidesstattliche Versicherung

Johanna Rath

Ich erkläre hiermit an Eides statt,
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Histologische und immunhistochemische Unterschiede bei endometrioiden Endometriumkarzinomen mit und ohne koexistenter Adenomyosis uteri

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Johanna Rath

München, 25.10.2019

Danksagung

Mein herzlichster Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Udo Jeschke, für die Bereitstellung des Themas sowie die ständige Weiterentwicklung der Fragestellung und Betreuung im Verlauf. Mit seiner ruhigen, freundlichen Art, jahrelanger Erfahrung und fachlicher Kompetenz stand er mir stets unterstützend zur Seite und beruhigte mich bei Problemen mit seinen lösungsorientierten Vorschlägen.

Des Weiteren möchte ich mich von ganzem Herzen bei Frau Dr. Linda Hertlein bedanken. Sie hat ihre Aufgaben als Betreuerin sehr ernst genommen und stand mir zu jeder Zeit mit Rat und Tat zur Seite. Aufgrund Ihrer sympathischen und hilfsbereiten Art herrschte immer ein gutes Arbeitsklima.

Ein weiteres riesiges Dankeschön gilt den lieben MTAs der Maistraße; besonders Frau Christina Kuhn, die mir die vielen dunklen Stunden im Archiv versüßt hat und mir schon früh morgens mit Ihrer fürsorglichen Art im Labor geholfen hat.

Ohne die stetige Unterstützung und die aufbauenden Worte dieses Teams wäre die Doktorarbeit in dieser Form nicht möglich gewesen.

Bei meinen lieben Eltern möchte ich mich vor allem für die Ermöglichung des Medizinstudiums sowie die Begleitung durch alle Höhen und Tiefen bedanken. Über die ganzen sieben Jahre hinweg sind Sie nicht müde geworden, mich immer wieder zu motivieren und nach Rückschlägen aufzubauen. Zuletzt möchte ich mich bei meinem Freund Justus bedanken, der mir viele Stunden bei der Formatierung und Erstellung von Graphen hilfreich zur Seite stand und die letzten Jahre bedingungslos für mich da war.