

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

Campus Innenstadt

Vorstand: Prof. Dr. med. Sven Mahner



*Expression und prognostische Bedeutung von Glycodelin
beim Endometriumkarzinom*

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

vorgelegt von

Isabel Auer

aus
Lüdenscheid

2022

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: *Prof. Dr. Udo Jeschke*

Mitberichterstatter: *Prof. Dr. med. Bjorn Lampe*

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 27.01.2022

Zusammenfassung

Das Wissen über immunsuppressive Faktoren bei der Pathogenese von Endometriumkarzinomen ist begrenzt. Glycodelin (Gd) ist ein Glykoprotein, welches in reproduktivem Gewebe sekretorischem und dezidualisiertem Endometrium exprimiert wird. Es hat mehrere reproduktionsbezogene Funktionen, die von der spezifischen Glykosylierung abhängen. Es ist bekannt, dass Gd auch bei verschiedenen Tumorerkrankungen exprimiert wird. Das Ziel dieser Arbeit war es, die Expression von Gd und seine immunsuppressive Isoform Glycodelin A (GdA) in Endometriumkarzinomgewebe zu untersuchen und die Auswirkungen auf klinische und pathologische Merkmale und das Überleben zu analysieren.

Dafür wurde an Gewebeproben von 292 Patientinnen mit Endometriumkarzinom mittels Immunhistochemie die Gd und GdA-Proteinexpression bestimmt und In-situ-Hybridisierung zum Nachweis von Gd-mRNA durchgeführt.

Es konnte gezeigt werden, dass die untersuchten Endometriumkarzinome in 72,8% eine mittlere (52,2%) oder hohe (20,6%) Expression von Gd zeigten und in 71,6% eine mittlere (62,6%), oder hohe (9,0%) Expression von GdA. Die glykosylierungsabhängige Färbung von GdA ist tumorspezifisch und korreliert mit der Gd-Färbung. Sie ist weder mit Östrogenrezeptorstatus, Progesteronrezeptorstatus noch klinisch-pathologischen Merkmalen assoziiert. Zusätzlich konnten wir mit Hilfe der In-situ-Hybridisierung zeigen, dass die Gd-Proteinexpression positiv mit der Gd-mRNA korreliert. Patientinnen mit Gd-positiver Anfärbereaktion haben eine günstige Prognose ($p = 0,039$), während GdA-positive Patientinnen eine eher schlechte Prognose haben ($p = 0,003$). Die Cox-Regressionsanalyse zeigte, dass GdA neben dem Tumorstadium, dem Grading und der Begleitdiagnose Hypertonie ein unabhängiger Prognosemarker für das Patientenüberleben ist ($p = 0,002$).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Gd und GdA häufig im Endometriumkarzinomgewebe exprimiert werden und für die Tumorgenese relevant zu sein scheinen. Sie unterscheiden sich nicht nur in der Glykosylierung, sondern auch in ihrer biologischen Aktivität, da nur GdA eine prognostische Bedeutung für ein schlechtes Gesamtüberleben bei Endometriumkarzinompatientinnen hat. Dieser Befund kann durch die immunsuppressive Kapazität von GdA erklärt werden. Möglicherweise können durch die Bestimmung der Glycodelin-expressionsmuster in Zukunft Endometriumkarzinompatientinnen für ein individualisiertes Therapieregime identifiziert werden.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung.....	3
Inhaltsverzeichnis.....	4
1 Einleitung.....	6
1.1 Glycodelin.....	6
1.2 Die Struktur von Glycodelin.....	7
1.2.1 mRNA.....	7
1.2.2 Protein.....	7
1.2.3 Faltung und Glykosylierung.....	8
1.3 Expressionsorte von Glycodelin.....	9
1.3.1 Uterus.....	9
1.3.2 Glycodelin in anderen Geweben.....	10
1.4 Die Regulation der Synthese von Glycodelin und weitere Eigenschaften.....	10
1.5 Endometriumkarzinome.....	14
1.5.1 Epidemiologie der Endometriumkarzinome.....	14
1.5.2 Typ-I-Karzinome.....	14
1.5.3 Typ-II-Karzinome.....	15
1.5.4 Diagnostik.....	15
1.5.5 Staging.....	16
1.5.6 Operatives Management und adjuvante Therapie.....	17
2 Fragestellung.....	18
3 Patientinnen, Material und Methoden.....	19
3.1 Patientinnen.....	19
1.1. Material für die in situ Hybridisierung.....	19
3.2 Die in situ Hybridisierung (ISH).....	20
3.2.1 Das Prinzip der in situ Hybridisierung.....	20
3.2.2 Technik der in situ Hybridisierung.....	21
3.2.3 Auswertung der in situ Hybridisierung (Bestimmung der GdA mRNA Expression).....	22
3.3 Immunhistochemie.....	22
3.3.1 Beschreibung der Immunhistochemie.....	22
3.3.2 Auswertung der Immunhistochemie.....	23
3.3.3 Herstellung der RNA-Sonde.....	24
3.4 Statistische Analyse.....	24
4 Ergebnisse.....	25
4.1 Gd mRNA Expression in Endometriumkarzinomen.....	27
4.2 Gd und GdA Expression in Endometriumkarzinomen.....	27

4.3	Prognostischer Nutzen.....	28
5	Diskussion	29
6	Fazit.....	33
7	Zusätzliche Tabellen und Abbildungen	34
8	Literaturverzeichnis	46
9	Weitere Verzeichnisse	57
9.1	Abbildungsverzeichnis	57
9.2	Tabellenverzeichnis.....	57
9.3	Abkürzungsverzeichnis	58
10	Eidesstattliche Versicherung.....	60
11	Danksagung.....	61
	Lebenslauf	62

1 Einleitung

1.1 Glycodelin

Seit den späten 1970er Jahren haben verschiedene Forscher unabhängig voneinander ein Glycoprotein aus der humanen Plazenta, der Amnionsflüssigkeit, der Dezidua und dem Seminalplasma isoliert, und diesem Protein verschiedene Namen gegeben. Sie benannten das Protein entweder nach dem Ursprungsort oder bezogen sich auf seine physikalisch-chemischen Eigenschaften, wie z. B. *placental alpha2-globulin* (1), *chorionic alpha2-microglobulin* (2), *Placental Protein 14* (PP14; auch wenn die Plazenta nicht der Ursprungsort ist)(3), *alpha-uterine protein* (4), *progesteron-associated endometrial protein (PAEP)* (5) oder *progesteron-dependent endometrial protein (PEP)* (6), *pregnancy-associated endometrial alpha2 globulin* (7) und *Glycodelin* (8). In der vorliegenden Arbeit wird die Bezeichnung Glycodelin (Gd) verwendet, auf die sich die meisten Forscher in den letzten Jahren geeinigt haben.

Das Glykoprotein Gd gehört zur Lipokalin Superfamilie. Die meisten Mitglieder dieser Familie transportieren kleine hydrophobe Liganden (9). Die Primärsequenz zeigt große Ähnlichkeit zum β -Laktoglobulin (β LG), einem Milchprotein, welches bei Menschen nicht exprimiert wird (10). Diese beiden Proteine haben jedoch unterschiedliche Eigenschaften. Gd tritt in verschiedenen Glykoformen auf (11).

Die amniotische Glycoform des Gd (bezeichnet als GdA) wird im Uterus gefunden. Dort stellt es das bedeutendste progesteronregulierte Glykoprotein dar, welches von sekretorischen/dezidualisierten endometrialen Drüsen in das Cavum uteri sezerniert wird. Andere Glycodelin-sezernierende Gewebe sind z.B. (s. Tabelle 3) die Follikel (sezernieren Glycodelin F, kurz GdF) und die Samenbläschen (sezernieren Glycodelin S, kurz GdS). Zusätzlich existiert eine Glycodelin C (GdC) Variante, sie findet sich im Cumulus oophorus (Eihügel).

Bemerkenswerterweise inhibieren GdA und GdF wirksam und dosisabhängig die menschliche Spermien-Oozytenbindung (12), während GdS, welches andersartig glykosiliert ist, diese Wirkung nicht aufweist (13,14). GdA ist in der proliferativen Phase des Endometriums im Wesentlichen nicht nachweisbar und wird dann in der sekretorischen Phase des

Ovulationszyklus und in der Frühschwangerschaft drastisch hochreguliert (15,16). Die Tatsache, dass GdA während der periovulatorischen Zyklusmitte nicht im Uterus nachgewiesen werden kann ist im Einklang mit dem „open fertile window“.

Glycodelin, welches durch lokale oder systemische Regulierung von Progestagenen induziert wird, kann die Leistung der Spermien in jeder Phase des Menstruationszyklus reduzieren. Die immunsuppressive Aktivität von GdA, die von der Beschaffenheit der N-verbundenen Glykanen abhängt, könnte zum Schutz des Embryos bei der feto-maternalen Verbindung beitragen, da GdA hier in hoher Konzentration gefunden wird (17). GdS besitzt keine dieser Eigenschaften, allerdings konnte gezeigt werden, dass GdS den nicht-befruchtungsfähigen Status der Spermien erhält (18).

1.2 Die Struktur von Glycodelin

1.2.1 mRNA

Glycodelin wird von einer 900-bp mRNA codiert, die sehr große Ähnlichkeit zu der mRNA von β LG und anderen Lipokalinen von verschiedenen Spezies aufweist. Die größte Ähnlichkeit ist in Exon 2, dieser Abschnitt kodiert für die Aminosäuresequenz, die in die Bindung von Retinolsäure an β LG involviert ist.

Es wurden verschiedene Splicing-Varianten der Glycodelin mRNA im männlichen und weiblichen Reproduktionstrakt gefunden (19,20), sowie in hämatopoetischen Zellen der Megakaryozytenlinie (21). Bei einigen der Varianten fehlt die kodierende Sequenz für die Glykosylierungsstellen und/oder der Thr-Asp-Tyr-Sequenz, die normalerweise in Proteinen der Lipokalinfamilie gefunden wird (22).

1.2.2 Protein

Die Glycodelin-cDNA kodiert für ein Protein aus 162 Aminosäuren, von denen vier Cysteinreste (an Position 66, 106, 119 und 160) intermolekulare Disulfidbrücken ausbilden (10). Das Molekulargewicht von Gd beträgt in theoretischer Ableitung 18,8 kDa, in der Realität beträgt es jedoch ungefähr 28 kDa (10). Diese Differenz kann auf den Umstand zurückgeführt werden, dass Gd einen relativ hohen Kohlenhydratanteil von 17,5 % der gesamten Masse aufweist. Gd zeigt sich als Homodimer und besitzt drei potentielle N-Glykosylierungsstellen an den Positionen (Asn-28, Asn-63, Asn-85), von denen jedoch nur an Position

28 und 63 Oligosaccharidstrukturen angeheftet sind (23). Diese Glykosylierung wird für die vielfachen biologischen Aktivitäten des Glykoproteins verantwortlich gemacht (14) und erfolgt geschlechtsspezifisch. Diese geschlechtsspezifischen Glykosylierungen führen letztendlich zu den unterschiedlichen biologischen und chemischen Eigenschaften der verschiedenen Gd Varianten (8,11).

Die isoelektrische Fokussierung zeigte, dass der isoelektrische Punkt (pI) von GdS (5.2 – 5.4) höher liegt als der von GdA (4.6 – 4.9). Auch die Molekularmasse unterschied sich etwas von der von GdA (24). Obwohl Molekularmasse und isoelektrischer Punkt dieser beiden Moleküle sich unterscheiden, verfügen sie über identische Verdauungspeptid-Profile und Immunreaktivität. Außerdem ist ihre Proteinstruktur gleich. Seminalplasma enthält außerdem kleinere immunreaktive Formen des Glycodelinproteins. Einige davon sind wahrscheinlich postranslationale Spaltprodukte (20,24).

1.2.3 Faltung und Glykosylierung

Verschiedenartig glykosylierte Gd-Isoformen zeigen ähnliche thermodynamische Parameter in der reversiblen Denaturierung, was darauf hinweist, dass die Glykosylierung nicht den entscheidenden Faktor für die endgültige Faltung der verschiedenen Isoformen darstellt. Die Tertiärstruktur von Gd wurde mit einem automatisierten Swiss-Model Service vorausgesagt, welches die Konfiguration einer Zielsequenz mithilfe der bereits bekannten Tertiärstruktur von bekannten „Familienmitgliedern“ extrapoliert. Mit dieser Methode stellte sich Gd ähnlich wie das bovine β LG und andere Mitglieder der Lipocalinfamilie dar (25). Abbildung 2 zeigt die Struktur von Glycodelin (11).

Einen entscheidenden Unterschied stellt allerdings die Glykosylierung dar. Es werden in der Aminosäuresequenz des β LG keine Glykosylierungsstellen gefunden, wie sie beim Gd vorkommen. Gd enthält 17,5 % Kohlenhydrate (3). Die gemessenen Ladungsdifferenzen zwischen den isoelektrischen Punkten von GdA und GdS legen Unterschiede in der Glykosylierung nahe, besonders weil die beiden Isoformen nach enzymatischer Deglykosylierung bei SDS-PAGE und isoelektrischer Fokussierung nicht voneinander zu unterscheiden sind (24). Die Swiss-Model Untersuchungen zeigen, dass die Glykane so angeordnet sind, dass sie Cluster formen können (26). Schiefner et al. untersuchten Gd auf Röntgenebene, wo Gd eine klassische Lipocalinfaltung mit zwei Disulfidbrücken zeigt. Die Faltung erscheint jedoch ungewöhnlich kompakt. Gd weist eine einzigartige homodimere quaternäre Struktur auf, die als Gerüst für die Präsentation spezifischer Glykane ideal geeignet erscheint. Tatsächlich

sind die vier Oligosaccharide in unmittelbarer Nähe auf derselben Seite der Dimeroberfläche präsentiert, was die Avidität für zelluläre Rezeptoren erhöht, z. B. während der Sperma-Ei-Erkennung (27).

Hautala et al. etablierten im Jahr 2020 einen neuartigen In-situ-Proximity-Ligationstest mit einem Lektin und einem Antikörper und zeigten, dass Gd in Endometriumkarzinomgeweben im Vergleich zu normalem Endometrium unterschiedlich glykosyliert ist. Ob der spezifische Nachweis eines solchen Gd beim endometrialen Karzinom von klinischer Bedeutung ist, muss noch geklärt werden (28).

1.3 Expressionsorte von Glycodelin

1.3.1 Uterus

Explantate aus humanem sekretorischen Endometrium und Proben von Deziduazellen synthetisieren Gd (15,29), und monolayer Zellkulturen aus Frühschwangerschafts-Deziduazellen setzen Gd frei (30). Immunohistochemische Färbungen haben gezeigt, dass das Gd in den sekretorischen endometrialen Drüsenzellen und im Drüsenepithel der Dezidua-Spongiosa gefunden werden kann (31). Außer in den ersten Tagen des Menstruationszyklus, wenn Gd in den basalen Drüsen verbleibt, kann in proliferativem Endometrium kein Gd nachgewiesen werden. Studien von verschiedenen Gruppen (6) haben gezeigt, dass während des periovulatorischen Zyklus kein Gd in humanem Endometrium nachgewiesen werden kann. Später gelang der erste Nachweis von Gd im Endometrium nach genauer Bestimmung des Ovulationszeitpunktes am Tag 16 (LH +3) des Zyklus. In den meisten Studien konnte Gd in den Drüsen des Endometriums vier bis fünf Tage nach der Ovulation nachgewiesen werden. Zuerst zeigte es sich in wenigen Drüsen, dann nach und nach zunehmend so dass sich etwa zehn Tage nach der Ovulation alle Drüsen stark positiv darstellten. Dieses stimmt überein mit dem in Endometriumsgewebe gemessenem Gd, welches zum Ende eines ovulatorischen Zyklus hin ansteigt (15). Die Glycodelinkonzentration während einer Schwangerschaft ist zwischen der 10. und 18. Woche am höchsten (32,33). Überzeugende Beweise dafür, dass das Gd von dem Endometrium selbst produziert wird, zeigen die Nachweise von Gd mRNA in sekretorischem/dezidualisiertem Endometrium (34) sowie in isolierten und kultivierten Zellen (35,36).

Analog dazu konnten in der Sekretionsphase des Menstruationszyklus hohe Gd-Konzentrationen in uteriner Spülflüssigkeit nachgewiesen werden (37,38). Genau wie in endometrialem Gewebe konnte Gd auch hier in der proliferativen oder frühen Sekretionsphase nicht nachgewiesen werden. Gd erscheint hier sechs Tage nach der LH- Ausschüttung, wobei die Konzentration mit kurzer Verdopplungszeit (6,6 – 14,6 h) in der sekretorischen Phase ansteigt (38). In der späten sekretorischen Phase erreicht Gd dann eine mehr als 100fach höhere Konzentration als in korrespondierendem Serum (s. Tabelle 4 und Abb. 2).

1.3.2 Glycodelin in anderen Geweben

Gd kann außer in Endometrium und uteriner Spülflüssigkeit noch in verschiedenen anderen Geweben des menschlichen Körpers nachgewiesen werden (s. Tabelle 3), z.B. im Eileiter (16), in den Ovarien (39), im Seminalplasma und in den Samenblasen (2), in hämatopoetischen Zellen (40), im Brustdrüsengewebe gesunder und an Brustkrebs erkrankter Frauen (41) sowie in anderen Geweben, z.B. im Lungengewebe und in ekkrinen Schweißdrüsen (42).

1.4 Die Regulation der Synthese von Glycodelin und weitere Eigenschaften

Die Synthese von Gd wird durch verschiedene Einflüsse reguliert. Das Endometrium enthält in der proliferativen Phase kein Gd, dies wird auch durch die Gabe von Östrogenen im Rahmen einer Hormonersatztherapie nicht verändert (43). Einige Studien haben eine Assoziation zwischen den Serumkonzentrationen von Östradiol in der Follikelphase und den Serumkonzentrationen von Gd in der lutealen Phase gezeigt (38,44). Es wurde eine signifikant positive Korrelation zwischen den Serumkonzentrationen von Östradiol und der Anfärbbarkeit des Endometriums in Bezug auf Gd in der Zeit zwischen dem 12. und 24. Tag des natürlichen Zyklus gezeigt (31). Gd ist demnach in der lutealen Phase hochreguliert, seine höchste Konzentration zeigt sich zwischen dem 8. und 10. Tag nach Ovulation (45). Während einer Schwangerschaft ist die Gd-Konzentration im maternalen Serum und in der Amnionflüssigkeit zwischen der 10. und 16. Schwangerschaftswoche am höchsten (33). Die zyklische Expression von Gd im Endometrium folgt der Progesteronexposition (15,46).

GdA besitzt mehrere immunsuppressive Fähigkeiten, die in der Reproduktionsmedizin am besten charakterisiert sind (47). Hierzu zählen die Unterdrückung der Lymphozytenproliferation und die Hemmung der Aktivität von T- und B-Zellen (48-50). Darüber hinaus wurde die Induktion von Apoptose über GdA untersucht (51). Auch auf die Natürlichen Killerzellen (NK) hat Gd Einfluß. Dixit et al. zeigten, dass Gd durch Hemmung von Perforin und $IFN\gamma$ die Zytotoxizität von peripheren NK-Zellen erniedrigt (52). Gd bindet auch an Monozyten und wird von diesen internalisiert (53) und wirkt auf ihre Differenzierung ein (54) und reguliert so möglicherweise die fetomaternale Toleranz und die Entwicklung der Plazenta.

Es gibt Hinweise darauf, dass maternale Gd-Serumlevel als biochemische Parameter für die differentialdiagnostische Unterscheidung zwischen intakter Schwangerschaft und inkomplettem Abort herangezogen werden können (55). Gd fungiert als effizienter Inhibitor der E-Selectin vermittelten Zelladhäsion. Aufgrund hoher Konzentration in der Dezidua und der potentiellen Fähigkeit, Selectin-vermittelte Zelladhäsion zu blockieren, nimmt Gd möglicherweise eine wichtige Rolle in der fetomaternalen Interaktion ein (56), und fördert so die Bildung der fetalen Immuntoleranz (57). Es konnte außerdem gezeigt werden, dass sowohl die hCG-Protein als auch die mRNA-Freisetzung in plazentaren Trophoblastzellen signifikant von GdA stimuliert wurden, wohingegen die Freisetzung von humanem plazentarem Lactogen gehemmt wurde (58,59). In weiteren Arbeiten konnten auch parakrine Effekte von GdA auf reproduktive Gewebe und die fetomaternale Trophoblasten-Schnittstelle nachgewiesen werden. Diese Daten stützen die Annahme, dass GdA ein Regulator der Trophoblastenfunktion sein könnte (60,61) (62).

Auch bei Komplikationen in der Schwangerschaft scheint Gd eine Rolle zu spielen. Präeklampsie (PE) ist durch Bluthochdruck, Ödeme und Proteinurie gekennzeichnet und betrifft etwa 3% aller Schwangerschaften (63). PE ist mit intrauterine growth restriction (IUGR) und einer Beeinträchtigung des Blutflusses in den Uteruskreislauf verbunden. Die IUGR ist jedoch nicht mit Bluthochdruck, Ödemen und Proteinurie assoziiert. HELLP ist ein Syndrom von Hämolyse, erhöhten Leberenzymen und niedriger Thrombozytenzahl (64). Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe zur Gd-mRNA und zur Proteinexpression im Gewebe haben gezeigt, dass sowohl dieses Protein als auch seine mRNA in IUGR- und HELLP-Zellen im Vergleich zu normalen Schwangerschaften signifikant reduziert sind. Bei präeklampsischen

Deciduas ist nur die Expression von Glycodelin-Protein signifikant reduziert, während dies bei mRNA nicht der Fall ist (65). Da bekannt ist, dass Gd ein wichtiges immunsuppressives Protein ist, kann eine verringerte Unterdrückung der mütterlichen Immunantwort für das PE-, IUGR- oder HELLP-Syndrom diskutiert werden. Auch bei Patientinnen mit habituellen Aborten konnte eine statistisch signifikant niedrigere GdA-Expression im Vergleich zu regelrecht verlaufenden Schwangerschaften nachgewiesen werden (66) (67). Diese Ergebnisse konnten von Uysal et al. auch für Patientinnen mit PCOS (Polyzystischem Ovarialsyndrom) bestätigt werden (68).

Es gibt jedoch auch hierzu konträre Studienergebnisse: Dundar et al. untersuchten die Beziehung zwischen der Gd-Serumkonzentration und der Schwere der Präeklampsie und konnten erhöhte Gd-Konzentrationen im Serum bei Patientinnen mit schwerer Eklampsie nachweisen. Gd war positiv korreliert mit der Höhe des systolischen und diastolischen Blutdrucks, den Transaminasen und Proteinurie (69).

Gd kommt auch als Biomarker für die Diagnose von Frühgeburtsbestrebungen und frühem vorzeitigen Blasensprung (preterm premature rupture of membranes = PPRM) in Betracht. Wang et al. konnten in ihrer Studie beobachten, dass Gd eine ausgezeichnete diagnostische Genauigkeit für PPRM mit einer jeweiligen Sensitivität und Spezifität von 100 und 87,5% aufwies. Die Ergebnisse ihrer Studie legen nahe, dass Gd ein neuartiger potenzieller Biomarker für PPRM sein und zu einem Lateral-Flow-Assay für die Anwendung als bedside-test entwickelt werden kann, um PPRM schnell zu diagnostizieren (70). Senapati et al. untersuchten verschiedene Biomarker bei Frauen mit erhöhtem Risiko für Komplikationen in der Frühschwangerschaft. Sie konnten zeigen, dass Gd als Marker für ektoper Schwangerschaften in Betracht kommt (71).

Bulgurcuoglu et al. untersuchten 2018 den folliculären Effekt der Gd-Spiegel auf die Entwicklung des Embryos vor der Implantation und auf die Ergebnisse der Behandlung der assistierten Reproduktion. Sie konnten zeigen, dass eine Korrelation zwischen den folliculären Gd-Spiegeln und der Qualität von in vitro entwickelten Embryonen (D3-Embryonen) besteht. Die genauen zellulären Mechanismen, durch die Gd die Entwicklung kompetenter Eizellen und die anschließende Embryonalentwicklung beeinflusst, müssen jedoch noch geklärt werden (72). Maxia et al. screenen das Blut von Frauen mit ungeklärter Unfruchtbarkeit auf verschiedene Biomarker, u.a. Gd, und konnten eine Korrelation zwischen ungeklärter Unfruchtbarkeit und immunologischen Auffälligkeiten zeigen. Dieser diagnostische Ansatz kann hilfreich sein, um Frauen mit einem höheren Risiko für ein Versagen der IVF

(in vitro Fertilisation)-Zyklen vorherzusagen und zu identifizieren (73). Bastu et al. konnten zeigen, dass GdA und Mucin 1 (MUC-1) bei Frauen mit wiederkehrendem Implantationsversagen (RIF = recurrent implantation failure) im Vergleich zu fruchtbaren Frauen extrem reduziert ist. Um den Zeitpunkt der optimalen Rezeptivität zu bestimmen, könnten diese Biomarker herangezogen werden. Eine erniedrigte Expression von GdA bei Frauen mit Implantationsversagen wiesen auch andere Forschergruppen nach (74,75). Bastu et al. konnten außerdem demonstrieren, dass die Blut- und Gewebemessungen von MUC-1 und GdA korrelieren. So könnten diese Marker aus dem Blut bestimmt werden und nicht mithilfe der invasiveren Probenentnahme aus dem Endometrium (76). Auch Dorostghoal et al. konnten eine signifikant niedrigere Expression von GdA in Frauen mit ungeklärter Unfruchtbarkeit nachweisen (77). Liu et al. untersuchten verschiedene Plasmaproteine im Samenplasma von Männern, um Charakteristika für ungeklärte Unfruchtbarkeit zu finden. Gd war in ihrer Studie von Patienten mit Rescue-ICSI-Schwangerschaften herunterreguliert, was darauf hinweist, dass ein niedrigerer Glycodelinspiegel die Spermien möglicherweise nicht in einem nicht aktivierten Zustand hält und an einem IVF-Versagen beteiligt ist (78).

Gd kommt aber auch als Biomarker für andere gynäkologische Krankheiten in Betracht: Mosbah et al. konnten zeigen, dass Gd und IL-6 (Interleukin 6) als potentielle Biomarker für Endometriose fungieren können und positiv mit der Schwere der Krankheit korreliert sind (79). Erhöhte Gd Konzentrationen bei Patientinnen mit Endometriose konnten auch in der peritonealen Flüssigkeit nachgewiesen werden (80). Bei pathologischen Zuständen wie Endometriose wird das Expressionsprofil möglicherweise im Zusammenhang mit der beeinträchtigten Empfänglichkeit des Endometriums verändert, wie Focarelli et al. zeigen konnten (81).

1.5 Endometriumkarzinome

1.5.1 Epidemiologie der Endometriumkarzinome

In Deutschland werden jährlich 11 000 Neuerkrankungen von Endometriumkarzinomen erfasst. Dies entspricht einem Anteil von 5,6% an allen bösartigen Neubildungen und stellt das vierthäufigste Malignom bei Frauen dar. Betrachtet man die Fünfjahresüberlebensrate (hier werden alle Stadien miteinbezogen), so wird das Überleben zwischen 75 und 83 % ausgewiesen (82). Für das Endometriumkarzinom liegt der Altersgipfel in Deutschland zwischen 65 und 85 Jahren. Das mittlere Erkrankungsalter wird mit 69 Jahren angegeben. Bis zu 20 % der Neuerkrankungen betreffen jedoch prämenopausale Frauen, 5% der Erkrankten sind sogar unter 45-jährig.

Der weitaus größte Anteil (ca. 80% der Karzinome) wird früh, d.h. im Stadium T1, diagnostiziert. Dabei gehören Korpuskarzinome zu den prognostisch eher günstigen Erkrankungen. Dies zeigt sich auch in der relativen 5-Jahres-Überlebensrate in Deutschland von 80 % (82).

1.5.2 Typ-I-Karzinome

Die Endometriumkarzinome werden in zwei Gruppen eingeteilt - ein östrogenassoziiertes (meist Typ I-Karzinom genannt) und ein östrogenunabhängiges Karzinom (wird als Typ II-Karzinom bezeichnet).

In 75 bis 80% der Fälle liegt ein Typ-I-Karzinom vor, es stellt also die häufigere Variante dar. In der Kanzerogenese sind einige Risikofaktoren bekannt. Als gesichert gelten insbesondere für das Typ I- Endometriumkarzinom folgende Faktoren:

- Langzeit-Östrogeneinnahme ohne gleichzeitigen Gestagenschutz
- eine Hormontherapie, bei der an weniger als 12 Tagen pro Monat eine Gestagen-Gabe erfolgt
- ein metabolisches Syndrom mit Adipositas (Body Mass Index (BMI) von mehr als 25 kg/m²)
- ein Diabetes mellitus
- ein PCOS
- eine lange Lebensspanne, in der Menstruationsblutungen auftreten

- Kinderlosigkeit (Nulliparität)
- ein Mammakarzinom in der eigenen Anamnese
- hohe Östradiolkonzentrationen im Serum (u. a. bei östradiol- bzw. androgensezierenden Tumoren)
- und stattgehabte Tamoxifen-Therapie (83).

Diese Faktoren führen vermutlich zunächst zu einer Endometriumhyperplasie (84). Diese kann unterteilt werden in einfache Hyperplasie (Karzinomrisiko unter 1%), eine komplexe Hyperplasie, jedoch ohne Atypien (hier besteht ein Karzinomrisiko von ungefähr 2%), eine einfache Hyperplasie mit Atypien (das Karzinomrisiko beträgt hier ungefähr 8%) und eine komplexe Hyperplasie mit Atypien (hier beträgt das Karzinomrisiko ungefähr 30%) (85).

1.5.3 Typ-II-Karzinome

Ungefähr 10-15% der Endometriumkarzinome gehören zu den Typ-II-Karzinomen. Diese werden histologisch entweder als seröse oder klarzellige Karzinome klassifiziert. Da dieser Typ östrogenunabhängig ist, weisen auch die Patientinnen nicht unbedingt die typischen Risikofaktoren einer Östrogendominanz auf – sie sind häufig schlank und in der Regel älter. Hohes Alter und vorausgegangene Radiatio des Uterus (z.B. aufgrund eines Zervixkarzinoms) sind als Risikofaktoren bekannt. Im typischen Fall entstehen die Karzinome aus atrophischem Endometrium über die Vorstufe eines endometrialen intraepithelialen Karzinoms. Die Expression von Östrogen- und/oder Progesteronrezeptoren fehlt (83).

1.5.4 Diagnostik

In der Früherkennung des Endometriumkarzinoms gilt als wichtiges hinweisendes Symptom die uterine Blutung bei Frauen in der postmenopausalen Lebensphase. Auch eine Veränderung der Intensität und Frequenz der Monatsblutungen bei perimenopausalen Frauen ist als verdächtig einzustufen und sollte abgeklärt werden (83). Bei asymptomatischen Frauen ist ein generelles Screening über endovaginale Sonographie und Zytologie ohne Risikofaktoren nicht als effektiv anzusehen. Ein Screening über Endometrium-Biopsien im Screening bei Patientinnen mit niedrigem Risiko wird als zu aufwändig eingestuft. Für

Hochrisikopatientinnen können gezielte Früherkennungsuntersuchungen mit endovaginaler Ultraschalluntersuchung und anschließender Endometrium-Biopsie jedoch möglicherweise sinnvoll sein. Dies gilt z.B. für Patientinnen mit Adipositas, Diabetes mellitus oder bekannter Endometriumhyperplasie sowie PCOS (83).

Zur Abklärung von Blutungsanomalien werden folgende Untersuchungen empfohlen:

- eine sorgfältige gynäkologische Untersuchung, um die Lokalisation der Blutungsquelle zu eruieren sowie die Ausdehnung des Befundes zu bestimmen. Es sollte danach eine transvaginale Ultraschalluntersuchung zur Beurteilung des Endometriums und der Adnexe erfolgen. Als suspekt wird eine mehr als 5 mm messende Endometriumdicke eingestuft, wenn bei postmenopausalen Patientinnen eine uterine Blutung auftritt (86). Bei postmenopausalen Patientinnen, die eine Hormontherapie (oder Tamoxifen) erhalten und bei prä- bzw. perimenopausalen Patientinnen ist die alleinige Bestimmung der Endometriumdicke nicht hinweisend für die Diagnose.
- Hysteroskopie oder fraktionierte Abrasio zur Histologiegewinnung.

1.5.5 Staging

Die Stadieneinteilung des Endometriumkarzinoms erfolgt nach der Klassifikation der Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique (FIGO). Diese Stadieneinteilung wurde 2010 modifiziert (s. Tabelle 5). Grundsätzlich ist ein operatives Staging gefordert, davon kann jedoch in begründeten Fällen abgesehen werden (z.B. Komorbiditäten oder noch nicht abgeschlossene Familienplanung und Vorliegen von „frühem“ Typ-I-Karzinom) (87).

Das operative Staging umfasst eine Exploration des Abdomens, Hysterektomie, beidseitige Adnexexstirpation und in Abhängigkeit vom Stadium pelvine und paraaortale Lymphonodektomie. Präoperativ sollten leitliniengerecht folgende Untersuchungen durchgeführt werden:

- Sorgfältige körperliche Untersuchung mit vaginaler Sonographie
- Anfertigung einer Röntgenaufnahme des Thorax in zwei Ebenen
- Abdominelle Ultraschalluntersuchung (dies erfolgt zum Ausschluß von Ascites, Harnstau und einer möglichen Metastasierung in Organe der Oberbauchregion)

- Ggf. sollte eine Zystoskopie bzw. Rektoskopie zum Ausschluss eines Stadiums FIGO IVa durchgeführt werden (87)

Die korrekte systematische Operation ist der entscheidende Aspekt der Therapie, da sie auch über die Notwendigkeit der adjuvanten Therapie bestimmt. Das laparoskopische Verfahren ist heutzutage bevorzugte Methode der Wahl (88). Eine Spülzytologie sollte nach Eingehen in das Abdomen vorgenommen werden. Dann erfolgt nach der Exploration des Abdomens die totale extrafasziale Hysterektomie und beidseitige Adnexektomie. Diese ist für die Stadieneinteilung wichtig und auch im Hinblick auf die Östrogenproduktion. Eine Schnellschnittuntersuchung kann die Infiltrationstiefe bestimmen. Sie entscheidet, ob eine Lymphonodektomie erforderlich ist oder nicht (89).

Zum Staging gehört auch die Entnahme von Biopsien an suspekten Stellen. Die retroperitoneale Lymphonodektomie wird kontrovers diskutiert und ist aktuell noch nicht abschließend geklärt (90-92).

1.5.6 Operatives Management und adjuvante Therapie

Als grundlegend für die operative Therapie des Endometriumkarzinoms wird die totale Hysterektomie und beidseitige Adnexektomie angesehen. In wenigen Fällen kann ausnahmsweise auf die operative Entfernung der Ovarien verzichtet werden (93). Dies stellt die Basistherapie für die meisten Betroffenen dar. Zusätzlich können stadiengerecht adjuvante Maßnahmen zum Einsatz kommen. Abbildung 3 gibt einen Überblick über mögliche operative Maßnahmen.

Zusätzlich spielen adjuvante Maßnahmen wie Strahlentherapie oder systemische Therapie eine Rolle. Tabelle 6 fasst die stadien- bzw. risikoadaptierten adjuvanten Therapien zusammen.

2 Fragestellung

Einige Risikofaktoren für die Entwicklung von Endometriumkarzinomen sind bereits bekannt (s. Kapitel 1.5.2 und 1.5.3), die genauen Mechanismen der Tumorgenese werden jedoch bei weitem noch nicht ausreichend erklärt. Ein schnelles Fortschreiten des Tumors wird höchstwahrscheinlich durch eine lokale Immunsuppression begünstigt, welche die körpereigene Antitumor-Immunreaktivität verringert. Über tumorinduzierte, lokale Immunsuppression bei Endometriumkarzinomen ist bis heute wenig bekannt, so gibt es nur sehr wenige Ergebnisse zu Endometriumkarzinomzellen und GdA (94), und bisher keine klinischen Daten zu Endometriumkarzinomen.

Die vorliegende Arbeit untersucht daher

1. die Expression von Gd in Endometriumkarzinomen anhand des
 - a. Nachweises von Gd-mRNA mittels In-situ-Hybridisierung und des
 - b. Nachweises von Gd-Protein mittels Immunhistochemie sowie

2. die Auswirkungen der Gd/GdA-Expression in Bezug auf klinische und pathologische Marker einschließlich des Überlebens.

3 Patientinnen, Material und Methoden

3.1 Patientinnen

Wir haben für unsere Studie paraffinfixierte Gewebeproben aus Hysterektomiepräparaten und Daten von insgesamt 292 Patientinnen der 1. Universitäts-Frauenklinik in München untersucht und ausgewertet. Bei allen Patientinnen war ein Endometriumkarzinom (ICD-10: Bösartige Neubildung des Corpus uteri) diagnostiziert worden. Das Alter der Patientinnen lag zwischen 35 und 88 Jahren, wobei das Durchschnittsalter 65.1 ± 0.6 Jahre betrug. Damit liegt der Altersdurchschnitt bei unseren Patientinnen unter dem durchschnittlichen Erkrankungsalter (75-80 Jahre) von Endometriumkarzinompatientinnen in Westeuropa allgemein. Dieser Umstand liegt unter anderem darin begründet, dass das Patientengut an einer Universitätsklinik ein selektiertes Patientengut darstellt, welches die Verteilung in der Gesamtbevölkerung nicht exakt abbildet. Patientinnen mit uterinem Sarkom wurden aus der Studie ausgeschlossen. Die Erstdiagnose des Endometriumkarzinoms wurde zwischen 1990 und 2001 gestellt. Es wurden archivierte Daten und verfügbare Akten zu jeder Patientin kontrolliert, um die Diagnose nochmals zu verifizieren. Weitergehend wurde eruiert, ob im Falle eines Erkrankungsrezidiv gegebenenfalls zusätzliche radiologische oder pathologische Befunde vorlagen, um diese einzusehen. Die Patientendaten wurden anonym analysiert. Alle Erkrankungen wurden durch radiologische Befunde oder durch Biopsien gesichert.

Genehmigung durch die Ethikkommission

Diese Studie wurde von der Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) unter der Nummer 063-13 genehmigt und wurde in Übereinstimmung mit den Richtlinien der Helsinki Deklaration von 1975 durchgeführt.

1.1. Material für die in situ Hybridisierung

Material	Firma
BCIP (Bromo-4-Chloro-3-Indolyl-Phosphate)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
t-RNA 109541 aus E.coli MRE 600	Roche Diagnostics GmbH, Mannheim
Anti-Digoxigenin-Ab, Fab Fragments, Cat. No.1093274,150 U (200µl)	Roche Diagnostics GmbH, Penzberg
Formamid deionisiert	Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe
Blocking Reagent Cat. No. 1096176	Roche Diagnostics GmbH, Penzberg
DIG RNA Labeling Kit, (SP6/T7), Cat. No. 1175025	Roche Diagnostics GmbH, Penzberg

NBT (Nitro Blue Tetrazolium)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Pepsin	Roche Diagnostics GmbH, Penzberg
PFA (Paraformaldehyde)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
DEPC (Diethylpyrocarbonate)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Essigsäureanhydrid	Fluka Chemie GmbH, CH-9471 Buchs
N,N Dimethylformamid	Merck, Darmstadt
Guanidinthiocyanate	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
EDTA	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg
Kaliumhydrogenphosphat	Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe
NaCl	Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe
tri-Natriumcitrat-Dihydrat	Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe
Natriumdihydrogenphosphat	Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe
Triethanolamine	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Tween 20 (Polyoxyethylene-Sorbitan Monolaurate)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Levamisol	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Trispuffer	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Maleinsäure	Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe
Triton x-100	Merck, Darmstadt
Methylgrün Zinkchlorid Doppelsalz (C.I. 42590)	Merck, Darmstadt
Magnesiumchloridhexahydrat	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg
Xylol	J.T. Baker, Deventer, Holland
Ethanol	Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe
Kaiser's Glyceringelatine	Merck, Darmstadt
HCl	Merck, Darmstadt
NaOH	Merck, Darmstadt
DAKO Pen, Code:S2002	DakoCytomation, DK- 2600 Glostrup

Tabelle 1 Materialien für die in situ Hybridisierung

3.2 Die in situ Hybridisierung (ISH)

3.2.1 Das Prinzip der in situ Hybridisierung

Bei der in situ – Hybridisierung (ISH) handelt es sich um ein Verfahren, um Nukleinsäuren, also DNA oder RNA, in Zellen, Chromosomen und Geweben nachzuweisen. Die ISH ist eine Technik, bei der Nukleinsäuren in ähnlicher Weise verwendet werden wie markierte Antikörper. So kann man spezifische Nukleinsäuresequenzen an Ort und Stelle (in situ) nachweisen. Man kann also feststellen, ob ein Gewebe eine bestimmte mRNA enthält und sie innerhalb der Zelle sogar einem bestimmten Bereich zuordnen.

Die in situ – Hybridisierung ist in vier große Abschnitte unterteilt:

1. Herstellung einer markierten RNA-Sonde
2. Fixierung von Zellen, Geweben und Zellbestandteilen auf Objektträgern
3. Hybridisierung
4. Nachweis der hybridisierten Sonde

3.2.2 Technik der in situ Hybridisierung

Bei der in situ Hybridisierung werden die in Paraffin eingebetteten Gewebeschnitte zuerst mit Xylol deparaffinisiert (30 min), und danach erst mit einer absteigenden Alkoholreihe (100%, 96%, 70%; verdünnt jeweils mit DEPC-Wasser) 3 min, dann 2 x 5 min mit 1x PBS gewaschen. Als nächstes werden die Gewebeschnitte mit 4% Paraformaldehyd in 10x PBS fixiert und anschließend mit 1x PBS gewaschen. Nach dem Verdau (Pepsin in 0,2 M HCl; 30 min) und erneuter Waschung in 1x PBS erfolgt die zweite Fixierung in 4% Paraformaldehyd (20 min). Jetzt erfolgt die Acetylierung in 0,1 M Triethanolamin (pH 8) mit Essigsäureanhydrid. Nach 15 min werden die Gewebeschnitte in 1x PBS gewaschen und danach mit 50% Formamid und 1,5x SSPE gewaschen (15 min).

Dann werden die Schnitte mit jeweils 50 µl Prähybridisierungspuffer (25 µl Formamid + 25µl Lösung D + 2,5 µl 10x Blocking + 0,21 µl t-RNA) bedeckt und eine Stunde in einer feuchten Kammer (mit 50% Formamid in 1,5x SSPE) bei 56° C inkubiert. Danach wird die Prähybridisierungslösung von den Schnitten entfernt und das Gewebe mit verdünnter Sonde (jeweils 2µl Sonde in 50µl Prähybridisierungslösung) überschichtet und über Nacht bei 56° C in feuchter Kammer (mit 50% Formamid in 1,5x SSPE) hybridisiert.

Am zweiten Tag werden die Gewebeschnitte zuerst mit Prähybridisierungslösung, dann mit 2x SSC, mit 0,1x SSC und abschließend mit 1x PBS gewaschen. Danach werden die Schnitte 1h bei Raumtemperatur unter leichtem Schütteln in Blocking-Lösung (12% Tween, 10% Triton, 5M NaCl, 10% Blocking Reagents, 2x Maleat, DEPC-Wasser) inkubiert. Im nächsten Schritt erfolgt die Antikörper-Inkubation mit Anti-Digoxigenin-Ab, Fab-Fragments (Anti-DIG-AP) über 1 h in feuchter Kammer.

Für die bevorstehende Färbung werden die Schnitte noch einmal gewaschen, zuerst mit Waschpuffer (1x Maleat; 0,3% Tween; 0,2% Triton; DEPC-Wasser), danach mit 1x AP-Puffer (10x AP-Puffer, 1M MgCl, DEPC-Wasser). Die Färbung erfolgt mit Levamisol, 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl-Phosphat (BCIP) und Nitro Blue Tetrazolin (NBT). Das Levamisol wird in 1x AP-Puffer gelöst, BCIP und NBT in Dimethylformamid und AP-Puffer. Die Lösung wird steril filtriert und die Schnitte werden bei 37°C in Dunkelheit unter Sichtkontrolle gefärbt. Nachdem der Färbeprozess mit TE-Puffer abgestoppt wird, erfolgt noch eine Gegenfärbung mit Methylgrün bei 56°C. Zuletzt werden die Gewebeschnitte mit Glycerol-Gelatine eingedeckt.

3.2.3 Auswertung der in situ Hybridisierung (Bestimmung der GdA mRNA Expression)

Die GdA Expression wurde durch eine automatische computergestützte Methode ausgewertet. Es wurden fünf digitale Aufnahmen jedes Gewebeschnittes angefertigt (3CCD Farbkamera, HV-C20M, Hitachi, Denshi, Japan und Axiolab, Carl Zeiss, Jena, Deutschland). Die optische Dichte des weißen Hintergrundes wurde auf 250 festgelegt, um Vergleichbarkeit zu gewährleisten. Die mittlere optische Dichte und die Gd positiven Pixel wurden mithilfe des KSRun software (imaging system KS400, Version 3.0, Zeiss) ermittelt.

Entsprechend des IRS Systems wurden die Gd positiven Pixel in neun Gruppen eingeteilt, wobei die Gruppe 1 die niedrigste Gd mRNA Expression vertritt und die Gruppe 9 die höchste.

3.3 Immunhistochemie

3.3.1 Beschreibung der Immunhistochemie

Die in Formalin fixierten und in Paraffin eingebetteten Gewebeschnitte wurden mit Hilfe von Xylol entwacht und die endogene Peroxidase-Aktivität durch das Eintauchen für 20 Minuten in 3% Hydrogenperoxid (Merck, Darmstadt, Deutschland) in Methanol abgefangen. Dann wurden die Schnitte in absteigenden Alkoholkonzentrationen rehydriert. Die Rückgewinnung des Epitops zur GdA Färbung erfolgte in einem Druckkochtopf mithilfe von Natrium Citrat Puffer (fünf Minuten bei pH 6.0). Dann erfolgten Waschungen in PBS und die Inkubation mit Primärantikörpern. Danach wurden die Schnitte nach den Herstelleranweisungen weiterverarbeitet. Zuletzt wurde die Immunoreaktivität durch Diaminobenzidine (Dako, Glostrup, Denmark) sichtbar gemacht, eine Gegenfärbung erfolgte mit Hämatoxylin. Es erfolgte eine Dehydratation in aufsteigender Alkoholkonzentration, eine Behandlung mit Xylol und das Eindecken. Eine Positiv-Kontrolle (Plazentagewebe) sowie eine Negativ-Kontrolle wurden jeweils mit angefertigt.

3.3.2 Auswertung der Immunhistochemie

Die Auswertung der Schnitte erfolgte mit Hilfe eines Zeiss Photomikroskops (Axiophot, Axiocam; Zeiss, Jena, Deutschland) durch zwei unabhängige Begutachter durchgeführt, von denen einer ein gynäkologischer Pathologe ist. Zunächst erfolgte das Aufsuchen des Tumorgewebes bei Lupenvergrößerung (10-fach) und anschließend die Beurteilung bei stärkerer Vergrößerung (25-fach). Zusätzliche Positiv- und Negativkontrollen aus jeder Färbereihe dienten zur Bestätigung der immunhistochemischen Färbereaktion.

Die Auswertung der Schnitte wurde nach dem immunoreaktiven Score (IRS) von Remmele und Stegner durchgeführt. Der genannte semiquantitative immunoreaktive Score berücksichtigt zwei Parameter: Färbeintensität (Staining Intensity = SI) sowie den Prozentsatz der immunhistochemisch positiven Zellen (PP) und errechnet sich aus dem Produkt der beiden Parameter.

Die Färbeintensität (SI) lässt sich wie folgt unterteilen:

- 0 = kein Nachweis einer Färbereaktion
- 1 = schwache Färbereaktion
- 2 = mäßige Färbereaktion
- 3 = starke Färbereaktion

Der Prozentsatz positiver Zellen (PP) lässt sich wie folgt einteilen:

- 0 = kein Nachweis positiver Zellen
- 1 = < 10% positive Zellen
- 2 = 10-50% positive Zellen
- 3 = 51-80% positive Zellen
- 4 = > 80% positive Zellen

Durch Multiplikation der beiden Parameter erhält man einen IRS – Score zwischen 0 und einem Maximalwert von 12.

Die Auswertung der Ergebnisse ergab folgende Expressionsgrade:

0 = keine Expression nachweisbar

1 – 3 = geringe Expression

2 – 8 = mäßige Expression

9 -12 = starke Expression

3.3.3 Herstellung der RNA-Sonde

Die Herstellung der spezifischen Primer für Glycodelin (PP144-pBSK-for: 5'-AGCCATGCTGTGCCTCCTGCTCA-3'; PP14-pBSK-rev: 5'-ACGATCTCCAGGTTGTCCTC-3') erfolgte nach der bekannten Glycodelinsequenz wie sie von Julkunen et. al 1988 beschrieben wurde (10). Hierfür wird ein 227 bp Fragment von Gd cDNA (Positionen +41 bis +268) in EcoR1 Restriktionsschnittstellen von pBluescript SK (Stratagene, Amsterdam, Niederlande) durch in vitro Transkription mithilfe des DIG RNA labeling Kits (SP6/T7; Roche Biochemicals, Mannheim, Deutschland) eingesetzt. Die antisense cRNA Sonde bindet in situ an die Gd-mRNA und wurde für den Gd-mRNA-Nachweis verwendet. Die sense rRNA Sonde diente als Negativkontrolle.

3.4 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung erfolgte mithilfe von SPSS 20.0 (PASW Statistics, Ehningen, Deutschland). Der nicht-parametrische Kruskal-Wallis rank-sum Test und der nicht-parametrische Mann-Whitney-U Test wurden angewendet, um Unterschiede in den verschiedenen Gruppen aufzuzeigen. Korrelationsanalysen wurden mit der Spearman-Korrelation durchgeführt. Eine Überlebensanalyse wurde mit der Kaplan-Meier Kurve erstellt. Der Chi-Quadrat Statistik des log-rank Tests wurde kalkuliert, um signifikante Unterschiede in den verschiedenen Überlebenskurven zu detektieren. Multivariate Analysen zum prognostischen Wert wurden nach dem Cox Regressions-Modell erstellt. Die Mittelwerte werden als +- Standardabweichung dargestellt und ein P-Wert unter 0,05 wird als statistisch signifikant angesehen.

4 Ergebnisse

Wir haben in Paraffin eingebettete Gewebeschnitte von 292 Patientinnen mit Endometriumkarzinom untersucht (Tabelle 2). 291 Fälle, die auf Gd analysiert wurden, 289 Fälle für GdA angefärbte Schnitte und 354 Fälle, die für Gd mRNA analysiert worden sind, konnten wir in die statistische Analyse einschließen. Die übrigen Fälle (ICH: Gd n=1, GdA: n= 3 und Gd mRNA: n=38) mussten aus technischen Gründen ausgeschlossen werden. Das mittlere Alter bei Diagnosestellung betrug 65,1 \pm 0,6 Jahre (gesamte Spannweite 35-88 Jahre).

72,6 % der Patientinnen (n= 212) wiesen ein Typ I Karzinom mit endometrioider Histologie auf. Unter den übrigen Patientinnen befanden sich 7,9 % mit seröser, 4,1 % mit muzinöser, 1,7 % mit klarzelliger und 0,3 % mit squamöser Zellhistologie. 11,6 % der Patientinnen wiesen eine Mischform auf, 1,7 % litten an einem undifferenzierten Karzinom.

Die Evaluierung der Begleiterkrankungen ergab ein gleichzeitiges Vorliegen von arterieller Hypertension in 39,7 % der Fälle, Übergewicht in 30,5 % der Fälle und Diabetes bei 11,3 % aller Patientinnen. Der mittlere follow-up Zeitraum betrug 13,8 Jahre (95 %; KI: 13,1-14,5) mit 160 Todesfällen. Die mittlere Überlebenszeit lag bei 13,6 Jahren (95 %; KI: 12,6-14,6). Weitere Patientencharakteristika werden in Tabelle 2 dargestellt.

Grade (%)	1	147 (51.2)
(n = 287)	2	93 (32.4)
	3	47 (16.4)
FIGO stage (%)	I	219 (75.0)
(n = 292)	II	21 (7.2)
	III	44 (15.1)
	IV	8 (2.7)
Histology (%)	Endometrioid	212 (72.6)
(n = 292)	Serous	23 (7.9)
	Clear cell	5 (1.7)
	Mucinous	12 (4.1)
	Squamous cell	1 (0.3)

Grade (%)	1	147 (51.2)
	Mixed	34 (11.6)
	Undifferentiated	5 (1.7)
Patient age \pm sem [y] (range)		65.1 \pm 0.6 (35.6-88.1)
Deaths (%)		160 (54.8)
Survival \pm sem [y] (95% CI)		13.6 \pm 0.5 (12.6-14.6)
Follow up \pm sem [y] (95% CI)		13.8 \pm 0.3 (13.1-14.5)
Glycodelin (%) (n = 291)	Low	79 (27.1)
	Intermediate	152 (52.2)
	High	60 (20.6)
Glycodelin A (%) (n = 289)	Low	82 (28.4)
	Intermediate	181 (62.6)
	High	26 (9.0)
ER alpha (%) (n = 292)	Positive	133 (45.5)
ER beta (%) (n = 292)	Positive	40 (13.7)
PRA (%) (n = 292)	Positive	121 (41.4)
PRB (%) (n = 292)	Positive	134 (45.9)
Co-morbidities	Hypertension (%)	116 (39.7)
	Diabetes (%)	33 (11.3)
	Obesity (%)	89 (30.5)
Lymphangiosis (%) (n = 292)	Positive	27 (9.2)
	Negative	263 (90.1)
	Unknown	2 (0.7)
Hemangiosis (%) (n = 292)	Positive	8 (2.7)
	Negative	281 (96.2)
	Unknown	3 (1.0)
Radiotherapy (%) (n = 292)	Yes	116 (39.7)
	No	170 (58.2)
	Declined	6 (2.1)
Chemotherapy (%) (n = 292)	Yes	7 (2.4)

Grade (%)	1	147 (51.2)
	No	283 (96.9)
	Declined	2 (0.7)

Tabelle 2 Patientencharakteristika: Immunhistochemische Anfärbung für Östrogen Rezeptoren (ER) (ER alpha, ER beta), und Progesteronrezeptoren (PR) (PR-A und PR-B) wie bereits zuvor veröffentlicht (95)

4.1 Gd mRNA Expression in Endometriumkarzinomen

Wir konnten in den meisten von uns untersuchten Fällen intermediäre (37,8 %) oder hohe (24,0 %) Expression von GdA mRNA nachweisen (Abbildung 4). Obwohl die in situ Hybridisierung der mRNA zeigt, dass die Gd Transkription hauptsächlich im Tumorepithel stattfindet, konnten wir keine signifikanten Unterschiede der Gd mRNA Expression zwischen den verschiedenen Tumor-Subtypen zeigen (Abbildung 4). In der dieser Arbeit zugrundeliegenden Studie war der Nachweis von Gd mRNA statistisch weder mit dem histologischen Tumorgrad noch mit dem Stadium der Patientin nach FIGO assoziiert.

4.2 Gd und GdA Expression in Endometriumkarzinomen

Mithilfe eines polyklonalen Antiserums konnten wir auch das Vorkommen von Gd Proteinen in Endometriumgeweben nachweisen. Immunhistochemische Färbungen zeigten mittlere bzw. hohe positive Anfärbarkeit für Gd in Endometriumkarzinomen in 52,2 % bzw. 20,6 % der Fälle (Abbildung 5 Tabelle 2). Bei einem signifikanten Prozentsatz der Endometriumkarzinome konnte beobachtet werden, dass sie eine immunsuppressive Unterform des Gd produzierten, die GdA genannt wird. Dieses GdA wurde bei 62,6 % (mittlere Anfärbarkeit) bzw. 9,0 % (hohe Anfärbarkeit) der Fälle gebildet. Obwohl die Immunoreaktivität für das Gd Protein positiv mit der Gd mRNA Expression korreliert (Korrelationskoeffizient 0,155; $p=0,013$), konnte bei Korrelation mit der Glykovariante GdA keine solche Beziehung gezeigt werden. Allerdings war die GdA Immunoreaktivität eng mit der Gd Protein Expression verknüpft (Korrelationskoeffizient 0,249; $p=0,001$).

Wir konnten die höchste mediane Gd-Expression beim undifferenzierten histologischen Subtyp zeigen (medianer IRS 8,0; mittlerer IRS $7,80\pm 0,49$), gefolgt von den endometrioiden

Karzinomen (medianer IRS 6,0; mittlerer IRS $5,9\pm 0,23$), den serösen (medianer IRS 6,0; mittlerer IRS $5,74\pm 0,76$) und dem gemischt-zelligen Typ (medianer IRS 6,0; mittlerer IRS $4,97\pm 0,60$), obwohl hier die Unterschiede der Gd Expression nicht statistisch signifikant waren ($p>0,05$) (Abbildung 5 und 6).

Vergleichbare Ergebnisse konnten wir für die GdA Expression und die histologischen Subtypen zeigen (Abbildung 5 und 6). Die beiden häufigsten histologischen Subtypen (endometrioid und serös) zeigen eine mediane GdA Expression von IRS 6,0. Weiterhin konnten wir keinen statistisch signifikanten Unterschied der GdA Expression zwischen den verschiedenen histologischen Subtypen feststellen ($p>0,05$) (Abbildung 5,6 und zusätzliches Material 3).

Interessanterweise konnten wir eine signifikante Reduktion der Gd Expression von FIGO Stadium III zu FIGO Stadium IV beobachten ($p=0,044$) (Abbildung 6). Jedoch war insgesamt die Gd/GdA Immunoreaktivität nicht statistisch signifikant, wenn man niedrige und höhere FIGO Stadien vergleicht (zusätzliches Material 4). Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen der Gd und der GdA Expression bei den verschiedenen Gradings der Tumore (Abbildung 6). Gd und GdA-Immunoreaktivität zeigte keine Signifikanz beim Vergleich von negativer bzw. positiver Färbung für ER, PR oder bei Begleiterkrankungen.

4.3 Prognostischer Nutzen

Wir führten auch eine statistische Analyse durch, um den prognostischen Nutzen der Gd und GdA Expression zu evaluieren. Die univariate Kaplan Meier Analyse belegt eine gute Prognose für intermediäre und hohe Gd Expression ($p=0,039$) (Abbildung 7a). Im Gegensatz dazu hatten allerdings Patientinnen mit hoher GdA Expression im Vergleich zu Patientinnen mit mittlerer oder niedriger GdA Expression eine schlechtere Prognose ($p=0,003$) (Abbildung 7b). Für die Gd mRNA Expression konnten wir keine Assoziation mit der Überlebenschance aufzeigen.

Neben Tumor Staging, Grading und der Begleitdiagnose arterielle Hypertonie (jeweils $<0,05$) konnte die Cox-Regressionsanalyse (Tabelle 7) GdA als unabhängigen Marker für das Überleben der Patientinnen zeigen ($p=0,002$; 95% KI 1,362-3,943) (105).

5 Diskussion

Endometriumkarzinome lassen sich in zwei histologische Subtypen einteilen: der östrogen-assoziierte Typ I und der östrogenunabhängige Typ II (96,97). Als häufigste Ursache für ein Endometriumkarzinom vom Typ I wird ein Überschuss an Östrogenen angesehen, dem eine unzureichende Menge an Gestagenen gegenübersteht (98). Deshalb sind Übergewicht, das PCO-Syndrom und der Einsatz einer Hormonersatztherapie in der Menopause mit erhöhtem Risiko für Endometriumkarzinome assoziiert (99-101). Von Typ II Karzinomen, die hauptsächlich die serösen und klarzelligen histologischen Subtypen umfassen, weiß man, dass sie häufiger metastasieren und mit einem schlechteren Überleben vergesellschaftet sind. Im Gegensatz zu den Typ I Karzinomen scheint ein Östrogenüberschuß für ihre Entstehung keine ursächliche Rolle zu spielen; sie sind eher mit höherem Lebensalter und vorangegangener Strahlentherapie des Uterus assoziiert (102).

Die Mehrzahl der Fälle wird als Typ I Karzinome klassifiziert und besteht aus endometrioiden Adenokarzinomen. In der Literatur werden sie für 75-85% der Adenokarzinome verantwortlich gemacht, dies steht in Übereinstimmung mit den in unserer Studienpopulation erhobenen 72,6% endometrioiden Tumoren.

Interessanterweise stellt arterielle Hypertonie als Begleiterkrankung einen negativen Einflusswert bei Patienten mit Endometriumkarzinomen dar. Diese Beobachtung stimmt mit den Ergebnissen der von Nicholas et al. veröffentlichten Daten überein, die eine negative Beeinflussung des Überlebens von Diabetes und arterieller Hypertonie nahelegen. Sie fordern eine stärkere Berücksichtigung solcher Begleiterkrankungen, weil sie zunehmend Einfluss auf die aktuelle Gesundheitsversorgung und entsprechende Richtlinien haben (103).

Obwohl Gd in verschiedenen Arten von Geweben nachgewiesen werden konnte, wird es doch nicht auch überall dort produziert. Dies wird durch den Nachweis bzw. fehlenden Nachweis der Gd mRNA deutlich gemacht (29,34,104,105).

Unsere immunohistochemischen Ergebnisse werden durch die in situ Hybridisierung bestätigt. Hierbei konnten wir neben des Vorkommens von Gd in Endometriumkarzinomen auch die dortige Synthese zeigen und somit seine Rolle in der Tumorgenese hervorheben. Unseres Wissens nach ist dieses die erste Studie, die das Vorkommen von Gd sowohl auf mRNA- als auch auf Proteinebene nachweist (106). Darüber hinaus legt das Vorkommen von Gd mRNA und die enge Korrelation zu Gd Protein Immunreaktion die Vermutung nahe, dass

die Tumorzellen des Endometriumkarzinoms selbst die Fähigkeit haben, Gd zu produzieren. Interessanterweise konnten wir keine signifikante Assoziation zwischen Gd mRNA und dem immunsuppressiven Gd glyko-Epitop GdA beobachten, was andeutet, dass GdA Nachweis eine Untergruppe von endometrioiden Tumoren darstellt, die nicht durch den alleinigen Nachweis von Gd mRNA vorhergesagt werden können. Leider konnten wir aufgrund des nur begrenzt vorhandenen Gewebematerials keine Proteingewinnung durchführen, so war eine direkte Quantifizierung der Gd/GdA Anteile aus der gleichen Gewebeprobe mittels Western Blot nicht möglich.

Gd hat in hormonabhängigen Tumoren verschiedene Effekte, wie eine reduzierte Expression der Onkogene und erhöhte Expression der Tumorsuppressorgene. Dies kann zu reduziertem Tumorwachstum, weniger Metastasenbildung und sinkender Chemoresistenz führen (94,107). Hautala et al. haben gezeigt, dass Gd das Wachstum von Brustkrebs in vivo hemmen konnte (107). Koistinen et al. transfizierten endometriale Adenokarzinomzellen HEC-1b mit Gd cDNA sowohl in antisense- als auch sense-Orientierung (94). Sie beobachteten, dass die sense-transfizierten Gd-produzierenden Karzinomzellen im Gegensatz zu den nativen bzw. antisense-transfizierten Karzinomzellen eine reduzierte Proliferation aufwiesen, morphologische Veränderungen zeigten und eine veränderte Expression von karzinomrelevanten Genen vorlag (94). Diese Ergebnisse illustrieren einige Aspekte des Gd und das Potenzial bei gynäkologischen Karzinomen. Dabei zeigt Gd in einigen hormonabhängigen Tumoren, dass eine Gd-Expression mit einer günstigen Prognose einhergeht, z.B. bei Mamma- und Ovarialkarzinomen (108,109). Bei den duktalem und invasiven Mammakarzinomen korrelierte ein Gd-Nachweis umgekehrt proportional zum Auftreten von Metastasen (108). Diese Daten stimmen mit unseren Beobachtungen überein, auch wenn Gd nur univariate prognostische Signifikanz in der Kaplan Meier Analyse erreichte.

Gd wurde auch in Karzinomen außerhalb des Reproduktionstraktes nachgewiesen, z.B. in Nicht-kleinzelligem Bronchialkarzinom (non small cell lung carcinoma, NSCLC) (110). Es konnte gezeigt werden, dass die Gd Konzentration anstieg, wenn Metastasen vorhanden waren. Patienten mit erhöhten Gd-Serumkonzentrationen hatten eine Tendenz zu kürzerem Überleben ($p=0.088$). Außerdem konnte durch die Messung der Gd-Konzentration eine Verschlechterung der Patienten früher erkannt werden als mit klinischer Diagnostik allein und gilt daher als vielversprechender Biomarker für Verlaufsbeobachtung bei fortgeschrittenen und metastasierten NSCLC (110). Zu diesem Schluss kommt auch eine Forschergruppe um Ho aus Taiwan, die die Expression von Gd und N-acetylgalactosamine-6-sulfatase (GALNS) untersucht (111). Ho et al. konnten außerdem zeigen, dass Gd nicht nur bei

Bronchialkarzinomen, Mammakarzinomen und Kolonkarzinomen erhöht ist, sondern auch bei Karzinomen der Leber und im Kopf- und Halsbereich. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Gd als vielversprechender Biomarker für die Diagnose und Therapie von Krebspatienten anzusehen ist (112-114).

Eine aktuelle Studie von Ni et al. untersucht die Gd Expression bei Patienten mit Adenokarzinom der Lunge und deren Einfluß auf das Auftreten von Metastasen im Gehirn sowie den Einfluß auf das Überleben. Sie konnten zeigen, dass Patienten mit fortgeschrittenem Lungenkarzinom und einer Überexpression von Gd häufig Hirnmetastasen entwickelten und ein signifikant kürzeres Überleben hatten (11,8 Monate vs. 20,4 Monate, $p < 0,05$) (115). Wenn die Regulationsmechanismen der Glycodelinexpression besser verstanden werden, könnten so in Zukunft neue therapeutische Ansätze entwickelt werden, die die Immunantwort auf NSCLC Tumoren schwächen (116).

Schneider et al. untersuchten Gd im Serum von Patienten mit malignem Pleuramesotheliom (MPM). Im Vergleich zu gutartigen Lungenerkrankungen waren die Serumspiegel signifikant erhöht. Patienten mit hohen Gd-Serumspiegeln zeigten ein schlechteres Gesamtüberleben. Die Gd-Serumspiegel korrelierten mit der Reaktion des Tumors auf die Behandlung. Gd war in MPM-Tumoren stark exprimiert. Analysen eines Gewebemikroarrays zeigten, dass die immunmodulatorische Form Gd A in MPM exprimiert wurde und mit dem Überleben der Patienten korrelierte. Insgesamt scheint Gd ein neuer potenzieller Biomarker für das aggressive maligne Pleuramesotheliom zu sein (117).

Histon-Deacetylase-Inhibitoren (HDACIs) werden als vielversprechende neue Krebstherapeutika gesehen. In 2006 wurde der HDACI suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA, Vorinostat (rINN), Zolinza®) von der FDA (Food and Drug Administration, Lebensmittelüberwachungs- und Arzneimittelbehörde der Vereinigten Staaten) für die Behandlung von kutanen T-Zell-Lymphomen zugelassen. Außerdem wurde es z.B. für Patienten mit Glioblastoma multiforme (118), nicht-kleinzelligem-Lungenkarzinom (119) und myelodysplastischem Syndrom (120) erprobt. Uchida et al. (121-123) zeigten, dass SAHA Gd in Endometriumkarzinom- und Chorio-Karzinom-Zelllinien hochregulieren kann und dass das SAHA-induzierte Gd tatsächlich die Zelldifferenzierung und -migration im verwendeten Modellsystem beeinflusst. Da wir herausgefunden haben, dass Gd signifikant mit einem verlängerten Gesamtüberleben bei Endometriumkarzinomen zusammenhängt, bleibt es eine Herausforderung zu untersuchen, ob Patienten mit Endometriumkarzinomen auch von der Anwendung von SAHA profitieren könnten.

Es wurde zwischenzeitlich gezeigt, dass HDACi als einzelnes therapeutisches Mittel eine begrenzte therapeutische Wirksamkeit gegen solide Tumoren aufweisen, jedoch synergistisch mit einer Reihe von strukturell und funktionell verschiedenen chemischen Verbindungen, biologisch aktiven Polypeptiden und neuartigen Immuntherapien funktionieren. Die Kombination von HDACi mit anderen Krebstherapeutika kann daher ein Weg sein, um ihr volles therapeutisches Potenzial auszuschöpfen (124). In einem aktuellen Preprint zeigen Edwards et al. die Nützlichkeit der HDACi-Arzneimittelverkapselung unter Verwendung eines von der FDA zugelassenen nanoskaligen polymeren Vektorsystems. Die Einkapselung und das Targeting von epigenetischen Wirkstoff-Nanopartikeln könnten eine Lösung zur Überwindung der in klinischen Studien beobachteten Toxizitäts- und Nebenwirkungen bieten. Angesichts der nachgewiesenen Beteiligung epigenetischer Prozesse an Endometriumkarzinomen ist diese Studie ein wichtiger erster Schritt in Richtung der Verwendung dieser Klasse von Antikrebsmitteln zur Behandlung fester Tumoren (125).

Abhängig vom Glykosylierungsstatus von Gd kann es in T-Zellen und Monozyten Apoptose auslösen. Diese In-vivo-Ergebnisse zu Gd und GdA könnten die teilweise widersprüchlichen Ergebnisse in klinischen Studien erklären. Im Gegensatz zu Gd beobachteten wir bei Patienten, die die immunsuppressive Isoform GdA exprimierten, ein schlechtes Ergebnis. Dieses Ergebnis wurde nicht nur auf der Grundlage einer univariaten, sondern auch einer multivariaten Überlebensanalyse erstellt (106) und steht in Einklang mit einer Studie zu Eierstockkrebs und GdA, in der GdA als prognostischer Marker für ein schlechtes Ergebnis bei Eierstockkrebs im fortgeschrittenen Stadium beschrieben wird (126). Trotzdem gibt es kontroverse Ergebnisse zur Gd-Expression und zum Überleben der Patienten (108,126-128). Diese können auf verschiedene mono- und polyklonale Antikörper zurückzuführen sein, die entweder peptidspezifisch oder glykosylierungsspezifisch sind. In Anbetracht dessen, dass unterschiedlich glykosylierte Gd Isoformen verschiedene Wirkungen ausüben können, kann man damit die zu diesem Thema veröffentlichten widersprüchlichen Forschungsergebnisse zumindest teilweise erklären (8). Eine Funktionsanalyse, also z.B. die Verwendung eines Tiermodells für Endometriumkarzinome, ist daher erforderlich, um die immunmodulatorischen Wirkungen von Gd/GdA weiter zu klären.

6 Fazit

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Gd und GdA im Endometriumkarzinomgewebe exprimiert werden und für die Tumorgenese von Bedeutung zu sein scheinen. Sie unterscheiden sich nicht nur in der Glykosylierung, sondern auch in ihrer biologischen Aktivität, da eine hohe Expression von Gd mit einem besseren Überleben assoziiert ist, während GdA eine prognostische Signifikanz für ein schlechtes Ergebnis bei Endometriumkarzinompatienten besitzt (106) Daher könnten Gd und insbesondere GdA bei der Auswahl von Patienten für eine individuellere Tumorthherapie hilfreich sein. Dafür sind jedoch noch umfangreiche weiterführende Studien notwendig.

7 Zusätzliche Tabellen und Abbildungen

Glycoform	Sites of expression	Author(s) Ref
GdA	Amniotic fluid	Riittinen et al. (1989)
	Secretory endometrium	Julkunen M., Koistinen R., et al. (1986)
	Decidua	Julkunen (1986)
GdS	Seminal plasma, seminal vesicles	Julkunen et al. (1984)
GdF	Ovary	Kamarainen et al. (1996)
	Follicular fluid	Tse et al. (2002)
Glycodelin (unknown glycoforms)	Fallopian tubes	Julkunen M., Wahlstrom T., et al. (1986)
	Serum	Julkunen et al. (1985)
	Breast, breast cancer	Kamarainen et al. (1996)
	Ovarian tumors	Kamarainen et al. (1999)
	Other gynecological tumors	Horowitz et al. (2001)
	Synovial sarcoma	Kamarainen et al. (1998)
	Various glands (e.g., eccrine glands)	Kamarainen et al. (1997)
	Bone marrow (erythroid lineage)	Kamarainen et al. (1994)
	Bone marrow (megakaryocytic lineage)	Morrow et al. (1994)
	Decidual NK cells	Koopman et al. (2003)

Tabelle 3 Expressionsorte von Glycodelin, aus (129)

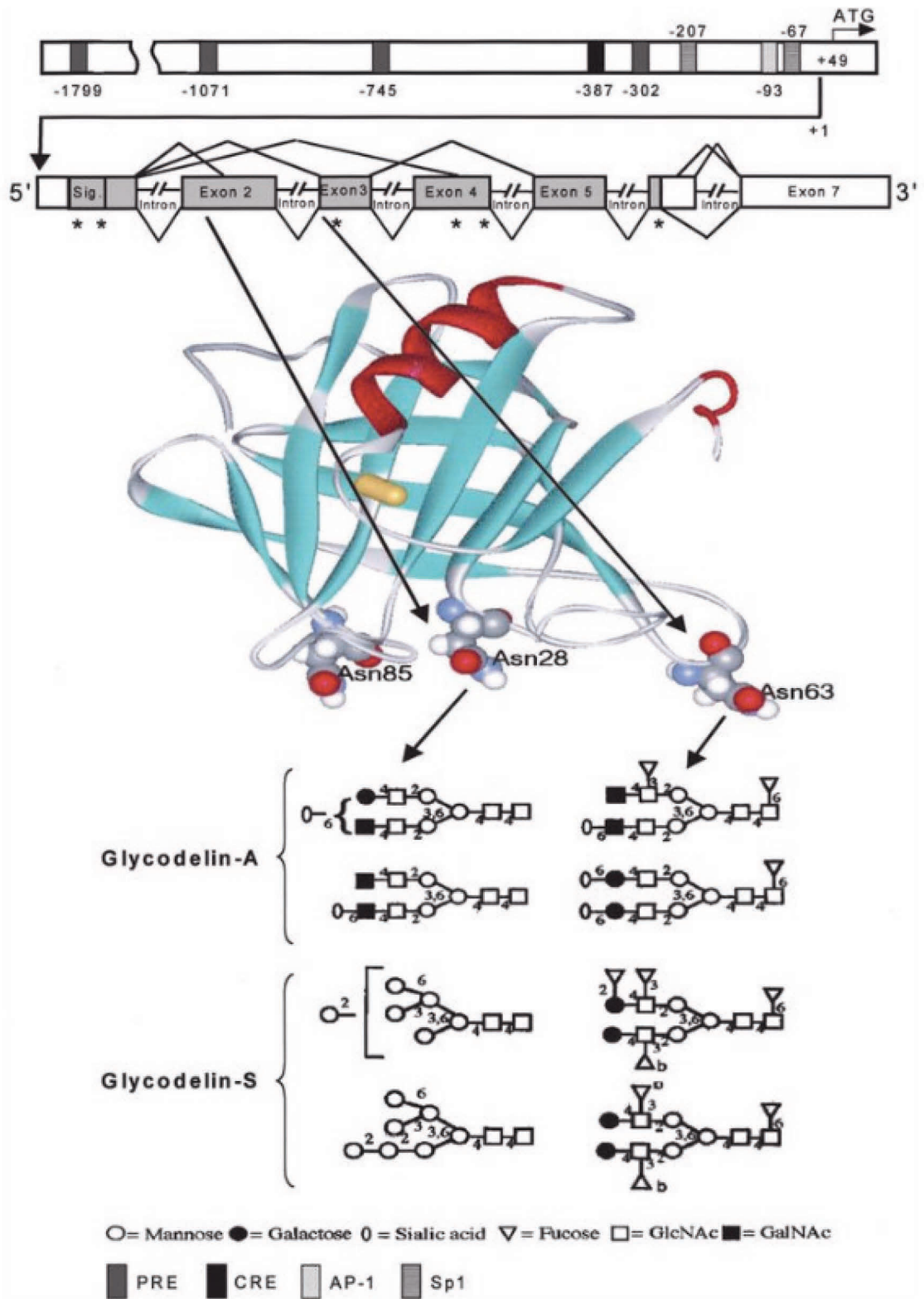


Abbildung 1 Die Struktur von Glycodelin, aus (11)

TABLE 2. Glycodelin concentrations in reproductive tissues, fluids, and peripheral serum

Source	Glycodelin concentration	Author(s) (Ref.)
Endometrium		
Mid-proliferative	<0.1 mg/g protein	Julkunen <i>et al.</i> , 1986 (36)
Mid-secretory	7.8 mg/g protein	Julkunen <i>et al.</i> , 1986 (36)
Late secretory	23 mg/g protein	Julkunen <i>et al.</i> , 1986 (36)
Decidua		
9 wk	160 mg/g protein	Julkunen <i>et al.</i> , 1985 (33)
40 wk	0.8 mg/g protein	Julkunen <i>et al.</i> , 1985 (33)
Fallopian tube		
Proliferative phase	4.3 μ g/g protein	Julkunen <i>et al.</i> , 1986 (82)
Secretory phase	16 μ g/g protein	
Uterine flushing		
Proliferative phase	Not detectable	
Early secretory phase	Not detectable	
Mid-secretory phase	12 mg/liter	Li <i>et al.</i> , 1993 (80)
Amniotic fluid		
12 wk	13 mg/liter	Julkunen <i>et al.</i> , 1985 (33)
16 wk	125 mg/liter	Julkunen <i>et al.</i> , 1985 (33)
40 wk	1 mg/liter	Julkunen <i>et al.</i> , 1985 (33)
Seminal plasma	95 mg/liter	Julkunen <i>et al.</i> , 1984 (32)
Serum (men)	<20 μ g/liter	
Serum (women)		
Mid-proliferative phase	<20 μ g/liter	Julkunen <i>et al.</i> , 1986 (36)
Mid-luteal phase	35 μ g/liter	Julkunen <i>et al.</i> , 1986 (36)
Late luteal phase	47 μ g/liter	Julkunen <i>et al.</i> , 1986 (36)
Menstrual	74 μ g/liter	Julkunen <i>et al.</i> , 1986 (36)
Pregnancy (12 wk)	1200 μ g/liter	Julkunen <i>et al.</i> , 1985 (33)
Pregnancy (40 wk)	100 μ g/liter	Julkunen <i>et al.</i> , 1985 (33)

Tabelle 4 Glycodelin Konzentrationen in verschiedenen Geweben und Körperflüssigkeiten, aus (11)

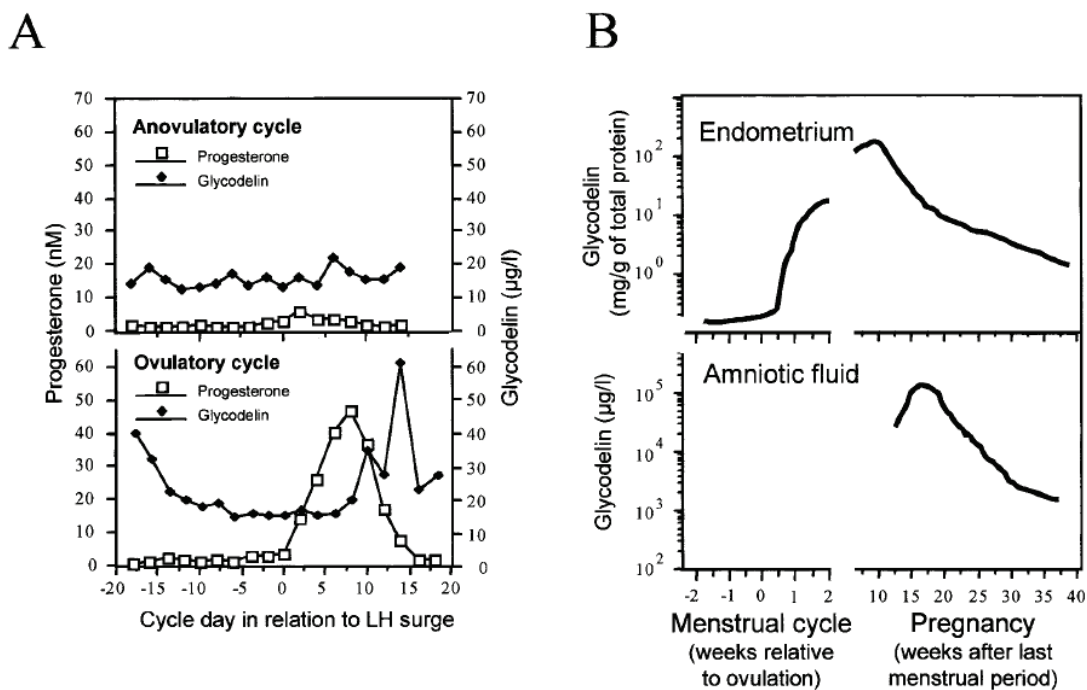


Abbildung 2 Glycodelinkonzentration bei Frauen. A: Serum in Bezug auf Ovulation und Progesteronsekretion. B: Endometrium und Amnionflüssigkeit. Aus (11)

Vergleich der FIGO-Klassifikationen (www.bgcs.org.uk)

Neu	FIGO	Alt
Tumor begrenzt auf das Corpus uteri	I	Tumor begrenzt auf das Corpus uteri
keine oder weniger als die Hälfte Myometriuminfiltration	IA	Tumor begrenzt auf das Endometrium
die Hälfte oder mehr Myometriuminfiltration	IB	weniger als die Hälfte Myometriuminfiltration
—	IC	die Hälfte oder mehr Myometriuminfiltration
Invasion Zervixstroma, keine Ausbreitung jenseits des Uterus* ¹	II	Zervixinfiltration, keine Ausbreitung jenseits des Uterus
—	IIA	nur endozervikaler Drüsenbefall
—	IIB	Zervixstromainvasion
lokale u./o. regionäre Ausbreitung	III	lokale u./o. regionäre Ausbreitung
Serosabefall u./o. Adnexbefall* ²	IIIA	Befall Serosa u./o. Adnexe u./o. Tumorzellen in Aszites/ Peritoneallavage
Vaginalbefall u./o. Parametrium-beteiligung	IIIB	Vaginalbefall
Lymphknotenbefall pelvin u./o. paraaortal	IIIC	Lymphknotenbefall pelvin u./o. paraaortal
positive pelvine Lymphknoten	IIIC1	—
positive paraaortale Lymphknoten mit oder ohne positive pelvine Lymphknoten	IIIC2	—
Infiltration Blasen- u./o. Rektumschleimhaut	IVA	Infiltration Blasen- u./o. Rektumschleimhaut
Fernmetastasen	IVB	Fernmetastasen

*¹ nur endozervikaler Drüsenbefall zählt zu FIGO I

*² positive Zytologie sollte separat notiert werden, ohne das Stadium zu verändern

Tabelle 5 Vergleich der FIGO Klassifikationen. Aus: Denschlag et al., *The diagnosis and treatment of endometrial cancer: progress and controversies Dtsch Arztebl Int* 2011(87)

TABLE 3**Adjuvant therapy of endometrial carcinoma (3), old classification****After hysterectomy with bilateral adnexal removal and systematic lymphadenectomy (15 pelvic and 10 para-aortic lymph nodes)**

pT1a G1/2, pT1b G1, pN0	No adjuvant therapy
pT1a G3, pT1b G2/3, pT1c, pT2, pN0	Vaginal brachytherapy
pT3, pT4, pN0, and all pN1	Teletherapy ± brachytherapy and/or chemotherapy
Serous and clear-cell carcinoma	Teletherapy ± brachytherapy and/or chemotherapy

After hysterectomy with bilateral adnexal removal but no systematic lymphadenectomy

pT1a G1/2 and T1b G1 Nx/cN0	No adjuvant therapy
pT1b G2 Nx/cN0	Vaginal brachytherapy

If secondary complete surgical staging is not possible

pT1a G3, pT1b G3 Nx/cN0	Vaginal brachytherapy; additional teletherapy can be considered as well
pT1c, pT2 Nx/cN0	Teletherapy ± brachytherapy
pT3/pT4a Nx/cN0, and all cN1	Teletherapy ± brachytherapy and/or chemotherapy
Serous and clear-cell carcinoma	Teletherapy ± brachytherapy and/or chemotherapy

Tabelle 6 Adjuvante Therapien des Endometriumkarzinoms. Aus: Denschlag et al., *The diagnosis and treatment of endometrial cancer: progress and controversies Dtsch Arztebl Int* 2011(87)

Stadienabhängige (alte Klassifikation) operative Therapie des Endometriumkarzinoms (3)

- **Stadium pT1a, pT1b, G1, G2**
 - totale Hysterektomie mit beidseitiger Adnexektomie
 - Zytologie
 - fakultativ: pelvine und paraaortale Lymphonodektomie
 - **Stadium pT1a, pT1b, G3 und Stadium pT1c G1 bis G3**
 - totale Hysterektomie mit beidseitiger Adnexektomie
 - Zytologie
 - pelvine und paraaortale Lymphonodektomie
 - **Stadium pT2a**
 - totale Hysterektomie mit beidseitiger Adnexektomie
 - Zytologie
 - pelvine und paraaortale Lymphonodektomie
 - **Stadium pT2b**
 - erweiterte radikale Hysterektomie mit beidseitiger Adnexektomie
 - Zytologie
 - pelvine und paraaortale Lymphonodektomie
 - **Stadium pT3a**
 - totale Hysterektomie mit beidseitiger Adnexektomie
 - pelvine und paraaortale Lymphonodektomie
 - Omentektomie
 - Debulking (maximale Zytoreduktion)
 - **Stadium pT3b (vaginaler Befall)**
bei gutem Allgemeinzustand und gegebener lokaler Operabilität:
 - erweiterte radikale Hysterektomie mit beidseitiger Adnexektomie
 - partielle/komplette Kolpektomie
 - pelvine und paraaortale Lymphonodektomie
- in den übrigen Fällen:
- Hysterektomie mit Adnexektomie beidseits
 - Tumor-Debulking in der Vagina
 - gegebenenfalls Lymphonodektomie
- **Stadium pN1 (FIGO IIIC)**
 - totale Hysterektomie mit beidseitiger Adnexektomie
 - pelvine und paraaortale Lymphonodektomie
 - **Stadium pT4 (FIGO IVA)**
 - bei isoliertem Befall von Blase und/oder Rektum ggf. vordere und/oder hintere Exenteration und beidseitige Adnexektomie, pelvine und paraaortale Lymphonodektomie
 - **Stadium M1 (FIGO IVB)**
 - bei gegebener lokaler Operabilität Hysterektomie (Blutstillung) und intraabdominelles Debulking zur Verbesserung der Effizienz der systemischen und strahlentherapeutischen palliativen Maßnahmen
 - **Besonderheiten bei serösen und klarzelligem Karzinomen**
stadiengerechte Operation (da definitionsgemäß „high grade“, inklusive pelviner und paraaortaler Lymphonodektomie) wie oben, zusätzlich:
 - Omentektomie
 - multiple peritoneale Biopsien
 - wenn extrauterine Manifestationen: maximales Tumor-Debulking
 - **Vorgehen bei fehlender oder unzureichender Lymphonodektomie bzw. fehlender Adnexektomie pT1a, pT1b; G3; pT1c, pT2, pNx**
 - nach Möglichkeit Komplettierung des operativen Stagings, dann stadiengerechte adjuvante Therapie
 - sonst adjuvante Therapie

Abbildung 3 Stadienabhängige operative Therapie des Endometriumkarzinoms. Aus: Denschlag et al., *The diagnosis and treatment of endometrial cancer: progress and controversies Dtsch Arztebl Int* 2011(87)

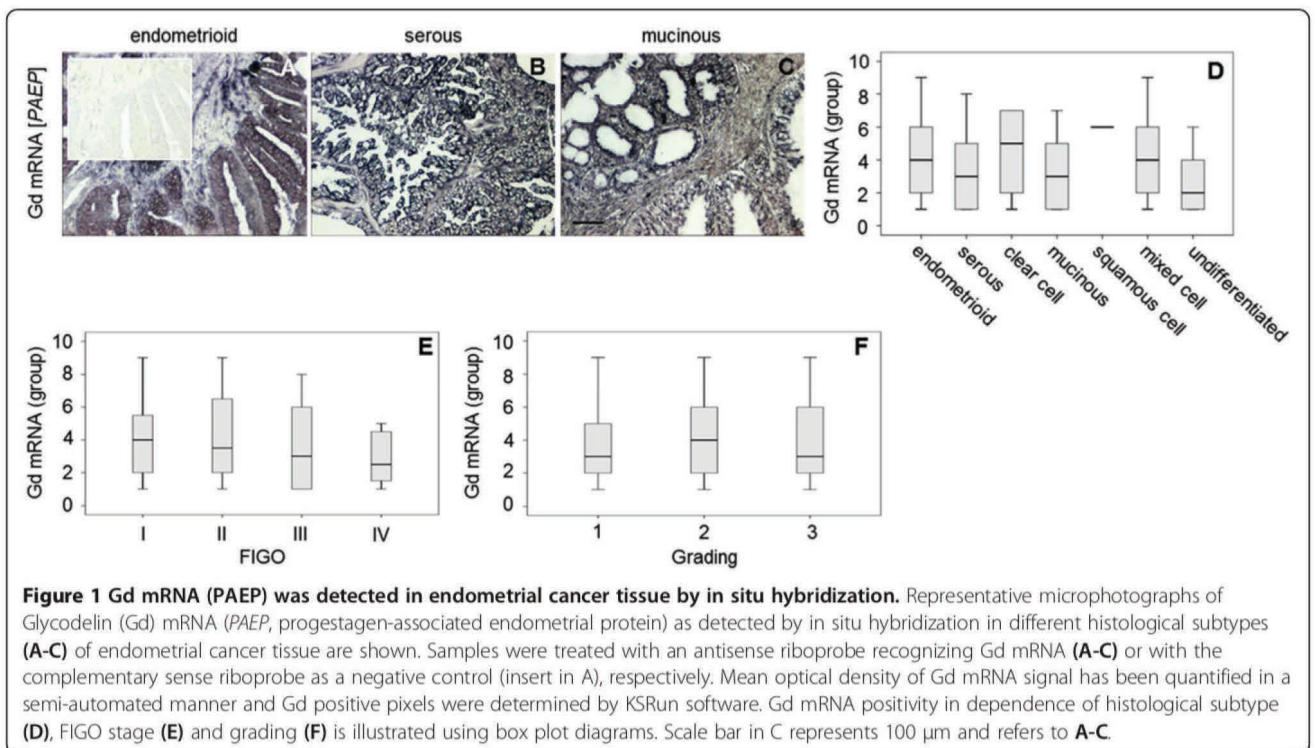


Abbildung 4 Nachweis von Gd mRNA in Endometriumkarzinomen mittels in situ Hybridisierung (aus Lenhard et al. BMC Cancer 2013, 13:616. <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/13/616>) (106)

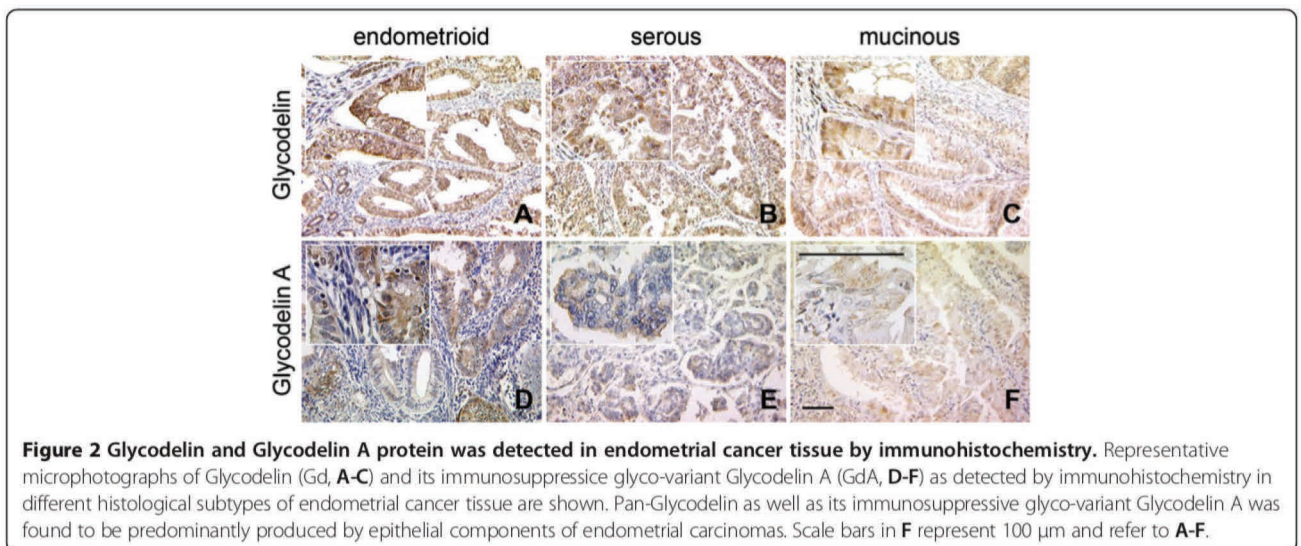


Abbildung 5 Nachweis von Gd und GdA Protein in Endometriumkarzinomen mittels Immunhistochemie (aus Lenhard et al. BMC Cancer 2013, 13:616. <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/13/616>) (106)

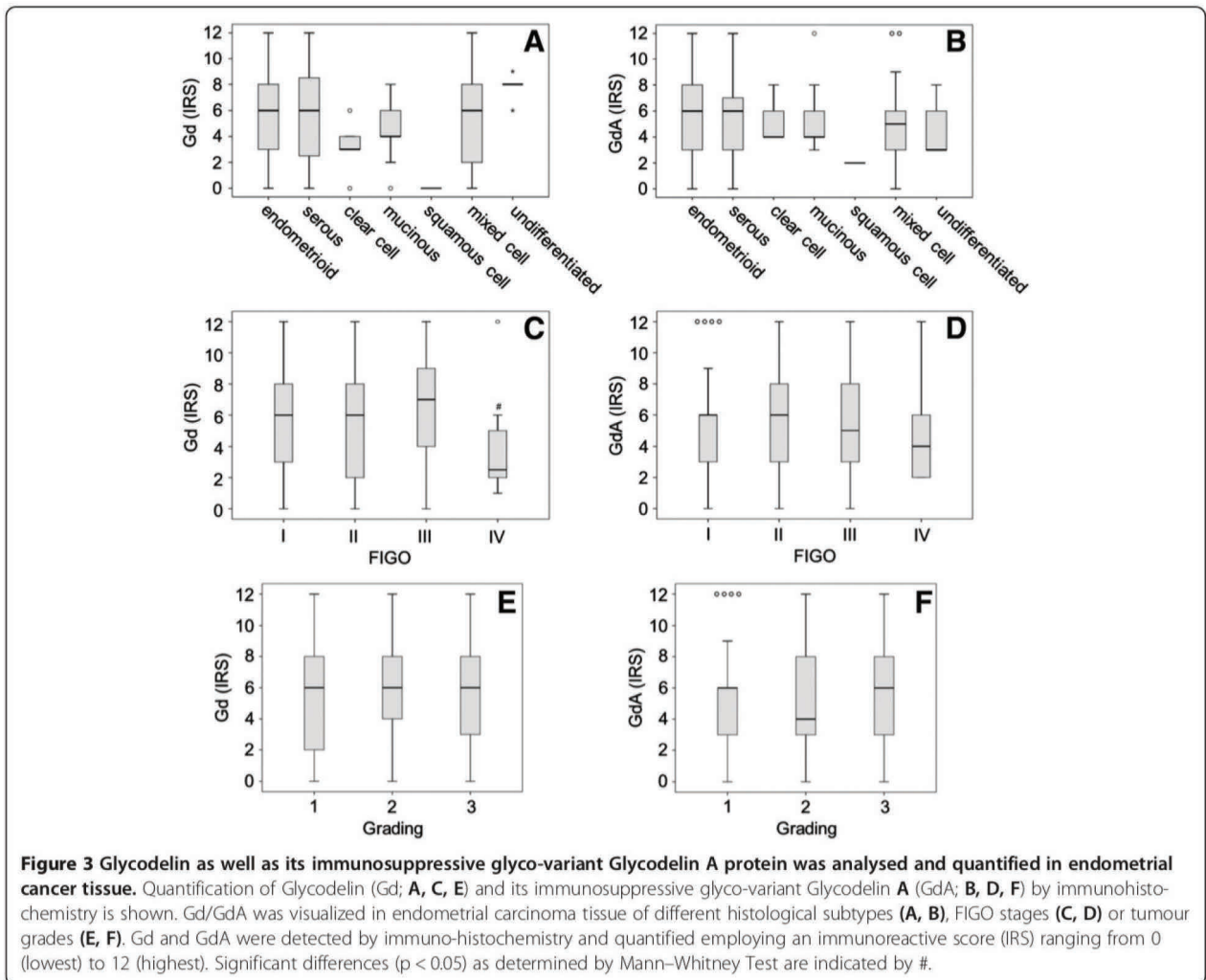


Abbildung 6 Analyse und Quantifizierung von Gd und GdA in Endometriumkarzinomgewebe (aus Lenhard et al. BMC Cancer 2013, 13:616. <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/13/616>) (106)

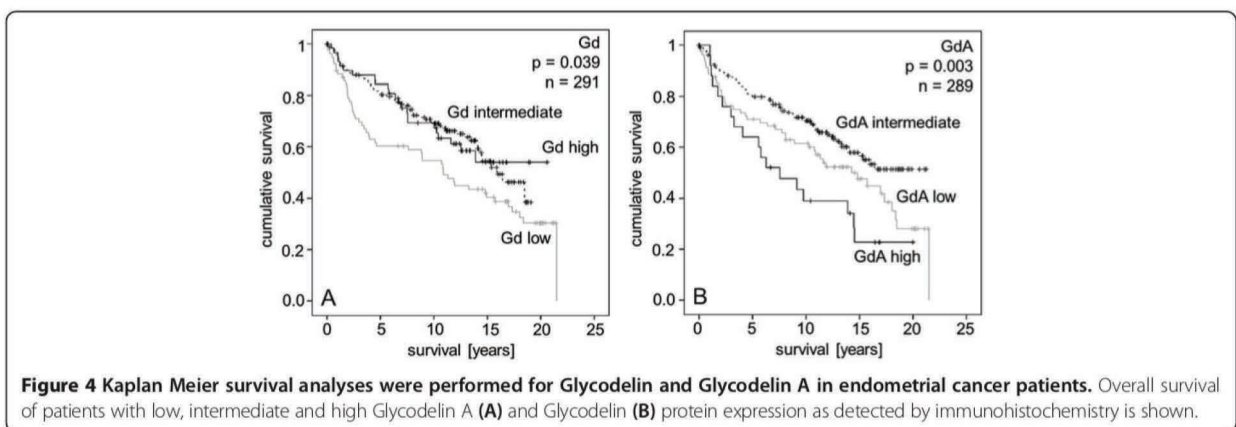


Abbildung 7 Kaplan Meier Überlebensanalyse für Gd und GdA Proteinexpression in Endometriumkarzinompatientinnen (aus Lenhard et al. BMC Cancer 2013, 13:616. <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/13/616>) (106)

Table 3 Multivariate COX regression analysis: Patient survival was analysed by multivariate COX regression analysis

Covariate	Coefficient (b _i)	[HR Exp(b _i)]	95% CI		P-value
			Lower	Upper	
FIGO stage					<0.001
I	(0.000)	(1.00)			
II	-3.064	.047	.011	.192	<0.001
III	-3.025	.049	.010	.233	<0.001
IV	-1.810	.164	.040	.669	.012
WHO grade					.023
1	(0.000)	(1.00)			
2	-.820	.440	.246	.790	.006
3	-.561	.571	.325	1.002	.051
Histology					0.068
Endometrioid	(0.000)	(1.00)			
Serous	-.297	.743	.233	2.372	.616
Clear cell	-.069	.934	.260	3.349	.916
Mucinous	-1.423	.241	.024	2.403	.225
Squamous cell	.074	1.077	.260	4.470	.918
Mixed cell	3.167	23.742	2.245	251.079	.008
Undifferentiated	-.163	.850	.255	2.828	.790
Lymph node metastasis	-.732	.481	.209	1.109	.086
Age (<=50 y vs. >50 y)	1.939	6.953	.909	53.204	.062
Diabetes	.451	1.570	.880	2.800	.127
Obesity	-.065	.937	.600	1.462	.774
Hypertension	.454	1.575	1.043	2.380	.031
Lymphangiosis	.216	1.241	.631	2.443	.532
Hemangiosis	.681	1.975	.476	8.187	.348
ER alpha	-.031	.970	.652	1.442	.880
PRA	-.156	.855	.572	1.279	.446
GdA	.840	2.317	1.362	3.943	.002
Gd	-.298	.743	.456	1.209	.232

Significant results are shown in bold.

Tabelle 7 Multivariate COX-Regressions-Analyse: Patientenüberleben anhand der multivariaten COX Regressionsanalyse (aus Lenhard et al. BMC Cancer 2013, 13:616. <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/13/616>) (106)

Zusatzmaterial:

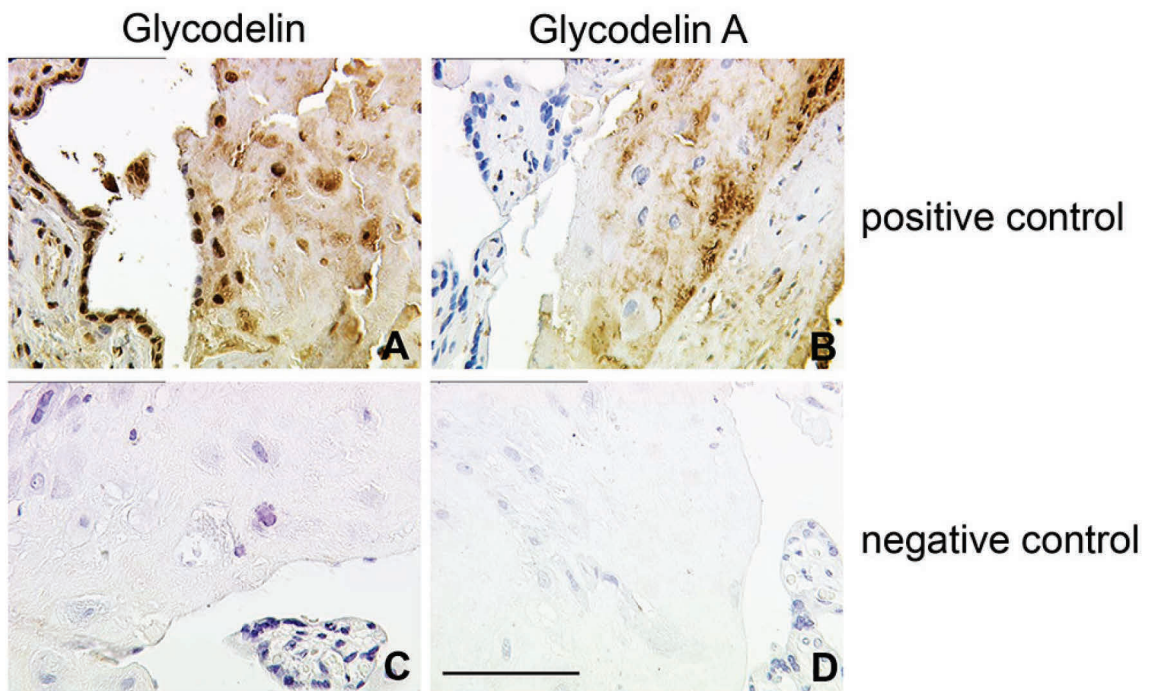


Abbildung 8 Zusatzmaterial: Repräsentative Mikrophotographie von positiven (A,B) und negativen Kontrollen (C,D) für Gd (A,C) und GdA (B,D)(eigene Bilder)

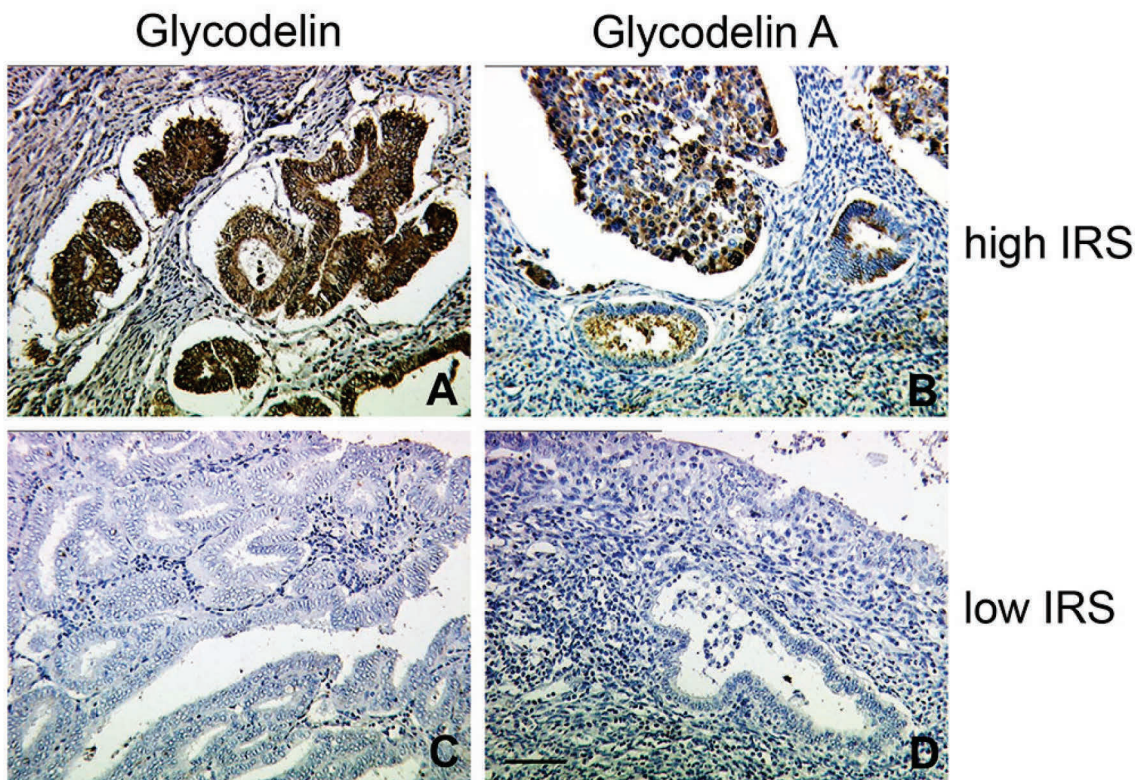


Abbildung 9 Zusatzmaterial 2: Repräsentative Mikrophotographien von Gd (A,C) und GdA (B,D) von hoher Anfärbarkeit (A,B; high IRS) und schwache/negative Anfärbarkeit (C,D; low IRS) in Gewebeschnitten (eigene Bilder)

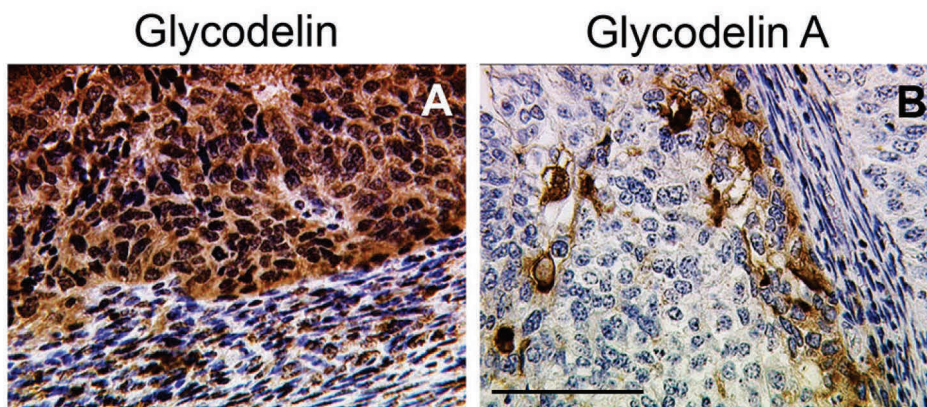


Abbildung 10 Zusatzmaterial 3: Repräsentative Mikrophotographien von Gd (A) und GdA (B) in undifferenzierten Endometriumskarzinomproben (veröffentlicht in Lenhard et al. BMC Cancer 2013, 13:616. <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/13/616>) (eigene Bilder)

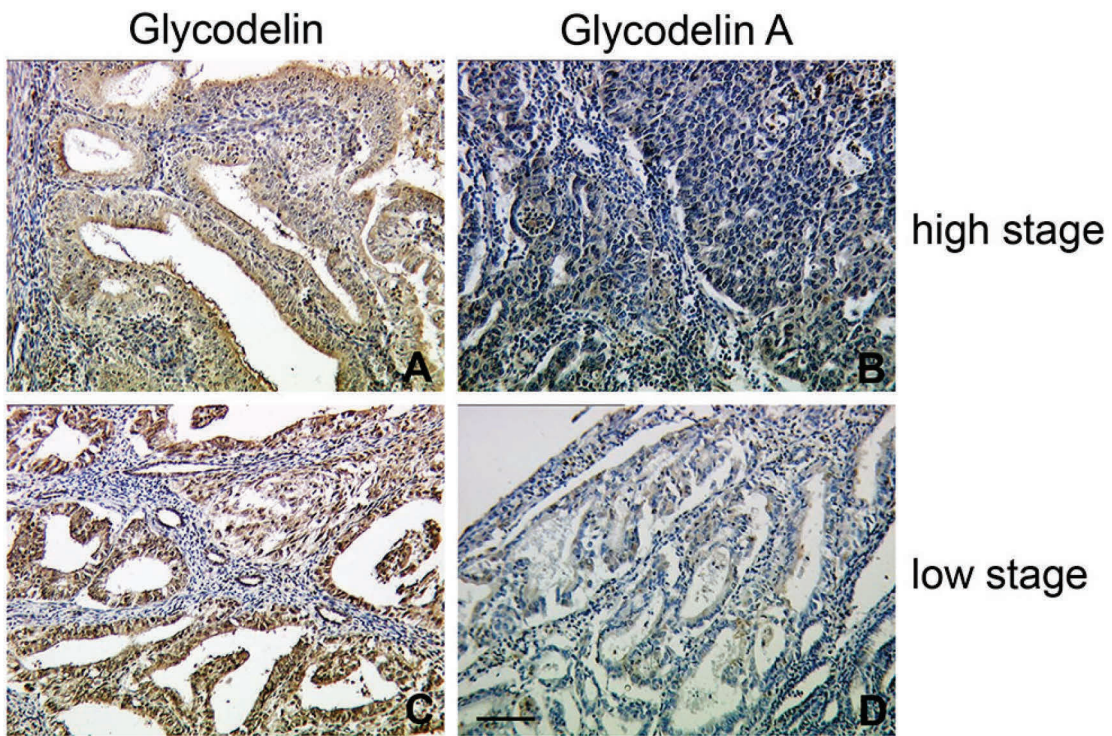


Abbildung 11 Zusatzmaterial 4: Repräsentative Mikrophotographien von Gd (A,C) und GdA (B,D) in fortgeschrittenem Stadium (A,B) und frühem Stadium (C,D) (veröffentlicht in Lenhard et al. BMC Cancer 2013, 13:616. <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/13/616>)(eigene Bilder)

8 Literaturverzeichnis

1. Petrunin DD, Griaznova IM, Petrunina IA, Tatarinov IS. [Immunochemical identification of human placental organ specific alpha2-globulin and its concentration in amniotic fluid]. *Biull Eksp Biol Med.* 1976 Jul;82(7):803–4.
2. Petrunin DD, Kozliaeva GA, Mesnianskina NV, Shevchenko OP. [Detection of chorionic alpha 2-microglobulin in the endometrium in the secretory phase of the menstrual cycle and in male sperm]. *Akush Ginekol (Mosk)* [Internet]. 1980 Mar;(3):22–3.
3. Bohn H, Kraus W, Winckler W. New soluble placental tissue proteins: their isolation, characterization, localization and quantification. *Placenta Suppl.* 1982;4:67–81.
4. Horne CH, Paterson WF, Sutcliffe RG. Localization of alpha-uterine protein in human endometrium. *J Reprod Fertil.* 1982 Jul;65(2):447–50.
5. Kamarainen M, Julkunen M, Seppala M. HinfI polymorphism in the human progesterone associated endometrial protein (PAEP) gene. *Nucleic Acids Res.* 1991 Sep 25;19(18):5092.
6. Joshi SG, Smith RA, Stokes DK. A progestagen-dependent endometrial protein in human amniotic fluid. *J Reprod Fertil. Society for Reproduction and Fertility;* 1980 Nov;60(2):317–21.
7. Bell SC, Patel S, Hales MW, Kirwan PH, Drife JO. Immunochemical detection and characterization of pregnancy-associated endometrial alpha 1- and alpha 2-globulins secreted by human endometrium and decidua. *J Reprod Fertil.* 1985 May;74(1):261–70.
8. Dell A, Morris HR, Easton RL, Panico M, Patankar M, Oehninger S, et al. Structural analysis of the oligosaccharides derived from glycodelin, a human glycoprotein with potent immunosuppressive and contraceptive activities. *J Biol Chem.* 1995 ed. 1995 Oct 13;270(41):24116–26.
9. Kontopidis G, Holt C, Sawyer L. Invited review: beta-lactoglobulin: binding properties, structure, and function. *J Dairy Sci. Elsevier;* 2004 Apr;87(4):785–96.
10. Julkunen M, Seppala M, Jänne OA. Complete amino acid sequence of human placental protein 14: a progesterone-regulated uterine protein homologous to beta-lactoglobulins. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1988 Dec;85(23):8845–9.
11. Seppälä M, Taylor RN, Koistinen H, Koistinen R, Milgrom E. Glycodelin: a major lipocalin protein of the reproductive axis with diverse actions in cell recognition and differentiation. *Endocr Rev.* 2002 Aug;23(4):401–30.
12. Oehninger S, Coddington CC, Hodgen GD, Seppala M. Factors affecting fertilization: endometrial placental protein 14 reduces the capacity of human

- spermatozoa to bind to the human zona pellucida. *Fertil Steril*. 1995 Feb;63(2):377–83.
13. Chiu PCN, Koistinen R, Koistinen H, Seppala M, Lee KF, Yeung WSB. Zona-binding inhibitory factor-1 from human follicular fluid is an isoform of glycodelin. *Biology of Reproduction* [Internet]. 2003rd ed. 2003 Jul;69(1):365–72.
 14. Morris HR, Dell A, Easton RL, Panico M, Koistinen H, Koistinen R, et al. Gender-specific glycosylation of human glycodelin affects its contraceptive activity. *J Biol Chem* [Internet]. 1996 Dec 13;271(50):32159–67.
 15. Julkunen M, Koistinen R, Sjöberg J, Rutanen EM, Wahlström T, Seppala M. Secretory endometrium synthesizes placental protein 14. *Endocrinology*. The Endocrine Society; 1986 May;118(5):1782–6.
 16. Julkunen M, Wahlström T, Seppälä M. Human fallopian tube contains placental protein 14. *Am J Obstet Gynecol*. Mosby; 1986 May 1;154(5):1076–9.
 17. Bolton AE, Pockley AG, Clough KJ, Mowles EA, Stoker RJ, Westwood OM, et al. Identification of placental protein 14 as an immunosuppressive factor in human reproduction. *Lancet*. 1987 Mar 14;1(8533):593–5.
 18. Chiu PCN, Chung M-K, Tsang H-Y, Koistinen R, Koistinen H, Seppälä M, et al. Glycodelin-S in human seminal plasma reduces cholesterol efflux and inhibits capacitation of spermatozoa. *J Biol Chem* [Internet]. 2005 ed. 2005 Jul 8;280(27):25580–9.
 19. Garde J, Bell SC, Eperon IC. Multiple forms of mRNA encoding human pregnancy-associated endometrial alpha 2-globulin, a beta-lactoglobulin homologue. *Proc Natl Acad Sci USA*. National Academy of Sciences; 1991 Mar 15;88(6):2456–60.
 20. Koistinen H, Koistinen R, Kamarainen M, Salo J, Seppala M. Multiple forms of messenger ribonucleic acid encoding glycodelin in male genital tract. *Lab Invest*. 1997 ed. 1997 May;76(5):683–90.
 21. Morrow DM, Xiong N, Getty RR, Ratajczak MZ, Morgan D, Seppala M, et al. Hematopoietic placental protein 14. An immunosuppressive factor in cells of the megakaryocytic lineage. *Am J Pathol*. American Society for Investigative Pathology; 1994 Dec;145(6):1485–95.
 22. Godovac-Zimmermann J. The structural motif of β -lactoglobulin and retinol-binding protein: a basic framework for binding and transport of small hydrophobic molecules? *Trends in Biochemical Sciences*. Elsevier Current Trends; 1988 Feb;13(2):64–6.
 23. Dell A, Morris HR, Easton RL, Panico M, Patankar M, Oehniger S, et al. Structural analysis of the oligosaccharides derived from glycodelin, a human glycoprotein with potent immunosuppressive and contraceptive activities. *J Biol Chem* [Internet]. 1995 Oct 13;270(41):24116–26.
 24. Koistinen H, Koistinen R, Dell A, Morris HR, Easton RL, Patankar MS, et al. Glycodelin from seminal plasma is a differentially glycosylated form of

- contraceptive glycodelin-A. *Mol Hum Reprod* [Internet]. 1996 ed. 1996 Oct;2(10):759–65.
25. Koistinen H, Koistinen R, Seppala M, Burova TV, Choiset Y, Haertle T. Glycodelin and beta-lactoglobulin, lipocalins with a high structural similarity, differ in ligand binding properties. 1999 ed. 1999 Apr 30;450(1-2):158–62.
 26. Varki A. Selectin ligands. *Proc Natl Acad Sci USA*. National Academy of Sciences; 1994 Aug 2;91(16):7390–7.
 27. Schiefner A, Rodewald F, Neumaier I, Skerra A. The dimeric crystal structure of the human fertility lipocalin glycodelin reveals a protein scaffold for the presentation of complex glycans. *Biochem J*. 2015 Feb 15;466(1):95–104.
 28. Hautala LC, Pang P-C, Antonopoulos A, Pasanen A, Lee C-L, Chiu PCN, et al. Altered glycosylation of glycodelin in endometrial carcinoma. *Lab Invest*. Nature Publishing Group; 2020 Mar 23;23:401–12.
 29. Julkunen M. Human decidua synthesizes placental protein 14 (PP14) in vitro. *Acta Endocrinol*. European Society of Endocrinology; 1986 Jun;112(2):271–7.
 30. Fay TN, Jacobs IJ, Teisner B, Westergaard JG, Grudzinskas JG. A biochemical test for the direct assessment of endometrial function: measurement of the major secretory endometrial protein PP14 in serum during menstruation in relation to ovulation and luteal function. *Hum Reprod*. 1990 May;5(4):382–6.
 31. Waites GT, Bell SC. Immunohistological localization of human pregnancy-associated endometrial alpha 2-globulin (alpha 2-PEG), a glycosylated beta-lactoglobulin homologue, in the decidua and placenta during pregnancy. *J Reprod Fertil* [Internet]. Society for Reproduction and Fertility; 1989 Sep;87(1):291–300.
 32. Bell SC, Hales MW, Patel SR, Kirwan PH, Drife JO, Milford-Ward A. Amniotic fluid concentrations of secreted pregnancy-associated endometrial alpha 1- and alpha 2-globulins (alpha 1- and alpha 2-PEG). *Br J Obstet Gynaecol*. 1986 Sep;93(9):909–15.
 33. Julkunen M, Rutanen EM, Koskimies A, Ranta T, Bohn H, Seppala M. Distribution of placental protein 14 in tissues and body fluids during pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol*. 1985 Nov;92(11):1145–51.
 34. Julkunen M, Koistinen R, Suikkari AM, Seppala M, Jänne OA. Identification by hybridization histochemistry of human endometrial cells expressing mRNAs encoding a uterine beta-lactoglobulin homologue and insulin-like growth factor-binding protein-1. *Mol Endocrinol*. The Endocrine Society; 1990 May;4(5):700–7.
 35. Taylor RN, Savouret JF, Vaisse C, Vigne JL, Ryan I, Hornung D, et al. Promegestone (R5020) and mifepristone (RU486) both function as progestational agonists of human glycodelin gene expression in isolated human epithelial cells. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1998 ed. 1998 Nov;83(11):4006–12.

36. Tseng L, Zhu HH, Mazella J, Koistinen H, Seppala M. Relaxin stimulates glycodelin mRNA and protein concentrations in human endometrial glandular epithelial cells. *Mol Hum Reprod*. 1999 ed. 1999 Apr;5(4):372–5.
37. Bell SC, Doré-Green F. Detection and characterization of human secretory “pregnancy-associated endometrial alpha 2-globulin” in uterine luminal fluid. *J Reprod Immunol*. 1987 May;11(1):13–29.
38. Li TC, Ling E, Dalton C, Bolton AE, Cooke ID. Concentration of endometrial protein PP14 in uterine flushings throughout the menstrual cycle in normal, fertile women. *Br J Obstet Gynaecol*. 1993 May;100(5):460–4.
39. Kamarainen M, Leivo I, Koistinen R, Julkunen M, Karvonen U, Rutanen EM, et al. Normal human ovary and ovarian tumors express glycodelin, a glycoprotein with immunosuppressive and contraceptive properties. *Am J Pathol*. 1996 ed. 1996 May;148(5):1435–43.
40. Kamarainen M, Riittinen L, Seppala M, Palotie A. Progesterone-associated endometrial protein--a constitutive marker. *Blood*. 1994.
41. Kamarainen M, Halttunen M, Koistinen R, Boguslawsky von K, Smitten von K, Andersson LC, et al. Expression of glycodelin in human breast and breast cancer. *Int J Cancer [Internet]*. 1999 ed. 1999 Dec 10;83(6):738–42.
42. Kamarainen M, Seppala M, Virtanen I, Andersson LC. Expression of glycodelin in MCF-7 breast cancer cells induces differentiation into organized acinar epithelium. *Lab Invest [Internet]*. 1998 ed. 1997 Dec;77(6):565–73.
43. Seppala M, Alfthan H, Vartiainen E, Stenman UH. The post-menopausal uterus: the effect of hormone replacement therapy on the serum levels of secretory endometrial protein PP14/beta-lactoglobulin homologue. *Hum Reprod*. 1987 Nov;2(8):741–3.
44. Seppala M, Martikainen H, Rönberg L, Riittinen L, Kauppila A. Suppression of prolactin secretion during ovarian hyperstimulation is followed by elevated serum levels of endometrial protein PP14 in the late luteal phase. *Hum Reprod*. 1989 May;4(4):389–91.
45. Mylonas I, Jeschke U, Kunert-Keil C, Shabani N, Dian D, Bauerfeind I, et al. Glycodelin A is expressed differentially in normal human endometrial tissue throughout the menstrual cycle as assessed by immunohistochemistry and in situ hybridization. *Fertil Steril [Internet]*. 2006 Nov;86(5):1488–97.
46. Julkunen M, Apter D, Seppala M, Stenman UH, Bohn H. Serum levels of placental protein 14 reflect ovulation in nonconceptional menstrual cycles. *Fertil Steril*. 1986 Jan;45(1):47–50.
47. Jeschke U, Toth B, Scholz C, Friese K, Makrigiannakis A. Glycoprotein and carbohydrate binding protein expression in the placenta in early pregnancy loss. *J Reprod Immunol*. 2010 May;85(1):99–105.
48. Rachmilewitz J, Borovsky Z, Riely GJ, Miller R, Tykocinski ML. Negative regulation of T cell activation by placental protein 14 is mediated by the

- tyrosine phosphatase receptor CD45. *J Biol Chem. American Society for Biochemistry and Molecular Biology*; 2003 Apr 18;278(16):14059–65.
49. Rachmilewitz J, Riely GJ, Tykocinski ML. Placental protein 14 functions as a direct T-cell inhibitor. *Cell Immunol*. 1999 Jan 10;191(1):26–33.
 50. Yaniv E, Borovsky Z, Mishan-eisenberg G, Rachmilewitz J. Placental protein 14 regulates selective B cell responses. *Cell Immunol*. 2003 Apr;222(2):156–63.
 51. Mukhopadhyay D, Sundarraj S, Alok A, Karande AA. Glycodelin A, not glycodelin S, is apoptotically active. Relevance of sialic acid modification. *J Biol Chem [Internet]*. 2004 Mar 5;279(10):8577–84.
 52. Dixit A, Karande AA. Glycodelin regulates the numbers and function of peripheral natural killer cells. *J Reprod Immunol*. 2020 Feb;137:102625.
 53. Hansen YBL, Myrhøj V, Sørensen S. Glycodelin is internalized by peripheral monocytes. *J Reprod Immunol*. 2020 Feb 15;138:103102.
 54. Vijayan M, Lee C-L, Wong VHH, Wang X, Bai K, Wu J, et al. Decidual glycodelin-A polarizes human monocytes into a decidual macrophage-like phenotype through Siglec-7. *J Cell Sci. The Company of Biologists Ltd*; 2020 Jul 15;133(14):jcs244400.
 55. Foth D, Römer T. Glycodelin serum levels in women with ectopic pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol [Internet]*. 2003rd ed. 2003 Jun 10;108(2):199–202.
 56. Burton GJ, Cindrova-Davies T, Turco MY. Review: Histotrophic nutrition and the placental-endometrial dialogue during human early pregnancy. *Placenta*. 2020 Dec;102(2–4):21–6.
 57. Jeschke U, Wang X, Briese V, Friese K, Stahn R. Glycodelin and amniotic fluid transferrin as inhibitors of E-selectin-mediated cell adhesion. *Histochem Cell Biol*. 2003rd ed. 2003 May;119(5):345–54.
 58. Jeschke U, Richter D-U, Walzel H, Bergemann C, Mylonas I, Sharma S, et al. Stimulation of hCG and inhibition of hPL in isolated human trophoblast cells in vitro by glycodelin A. *Arch Gynecol Obstet*. 2003rd ed. 2003 Aug;268(3):162–7.
 59. Reimer T, Koczan D, Briese V, Friese K, Richter D, Thiesen HJ, et al. Absolute quantification of human chorionic gonadotropin-beta mRNA with TaqMan detection. 4. *Mol Biotechnol [Internet]*. 2000 Jan;14(1):47–57.
 60. Jeschke U, Richter DU, Reimer T, Bergemann C, Briese V, Karsten U, et al. Glycodelin A and differentiation of first trimester trophoblast cells in vitro. *Arch Gynecol Obstet*. 2004 ed. 2005 Jul;272(2):151–9.
 61. Jeschke U, Richter DU, Briese V, Mylonas I, Friese K. [Stimulation of HCG, estrogen and progesterone production in isolated trophoblast cells by glycodelin A or its N-glycans]. *Z Geburtshilfe Neonatol*. 2005 ed. 2005 Apr;209(2):59–64.

62. Lee C-L, Lam KKW, Vijayan M, Koistinen H, Seppälä M, Ng EHY, et al. The Pleiotropic Effect of Glycodelin-A in Early Pregnancy. *American Journal of Reproductive Immunology*. John Wiley & Sons, Ltd; 2016 Mar;75(3):290–7.
63. Schlembach D. Pre-eclampsia--still a disease of theories. *Fukushima J Med Sci*. 2003 Dec;49(2):69–115.
64. Sibai BM. Diagnosis, controversies, and management of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count. *Obstet Gynecol*. 2004 May;103(5 Pt 1):981–91.
65. Jeschke U, Kunert-Keil C, Mylonas I, Hammer A, Schiessl B, Lomba I, et al. Expression of glycodelin A in decidual tissue of preeclamptic, HELLP and intrauterine growth-restricted pregnancies. *Virchows Arch*. 2005 ed. 2005 Apr;446(4):360–8.
66. Polat M, Keskin N, Khatib G. THE EFFECT OF MUCIN-1, GLYCODELIN-A, LEUKEMIA INHIBITORY FACTOR, INTERLEUKIN-15 AND GRANULOCYTE COLONY STIMULATION FACTOR IN THE UNEXPLAINED RECURRENT PREGNANCY LOSS - A CASE CONTROL STUDY. *Global Journal For Research Analysis (GJRA)*. 2019 Aug 26;7(12).
67. Löb S, Vattai A, Kuhn C, Schmoeckel E, Mahner S, Wöckel A, et al. Pregnancy Zone Protein (PZP) is significantly upregulated in the decidua of recurrent and spontaneous miscarriage and negatively correlated to Glycodelin A (GdA). *J Reprod Immunol*. 2021 Feb;143(1):103267.
68. Uysal S, Zeki Isik A, Eris S, Yigit S, Yalcin Y, Ozun Ozbay P. Correlation of endometrial glycodelin expression and pregnancy outcome in cases with polycystic ovary syndrome treated with clomiphene citrate plus metformin: a controlled study. *Obstet Gynecol Int*. Hindawi; 2015;2015:278591.
69. Dundar B, Dincgez Cakmak B, Aydin Boyama B, Karadag B, Ozgen G. Maternal serum glycodelin levels in preeclampsia and its relationship with the severity of the disease. *J Matern Fetal Neonatal Med*. Taylor & Francis; 2018 Nov;31(21):2884–92.
70. Wang Y, Luo H, Che G, Li Y, Gao J, Yang Q, et al. Placental protein 14 as a potential biomarker for diagnosis of preterm premature rupture of membranes. *Molecular Medicine Reports*. Spandidos Publications; 2018 Jul 1;18(1):113–22.
71. Senapati S, Sammel MD, Butts SF, Takacs P, Chung K, Barnhart KT. Predicting first trimester pregnancy outcome: derivation of a multiple marker test. *Fertil Steril*. 2016 Dec;106(7):1725–1732.e3.
72. Bulgurcuoglu-Kuran S, Ozsait-Selcuk B, Gungor-Ugurlucan F, Koksal G, Günay C, Faruk B. Higher follicular fluid glycodelin levels are negatively correlated with embryonic development in assisted reproduction. *JBRA Assisted Reproduction*. 2018 Nov 1;22(4):346–51.
73. Maxia N, Uccella S, Ersetigh G, Fantuzzi M, Manganini M, Scozzesi A, et al. Can unexplained infertility be evaluated by a new immunological four-biomarkers panel? A pilot study. *Minerva Ginecol*. 2018 Apr;70(2):129–37.

74. Pathare ADS, Zaveri K, Hinduja I. Downregulation of genes related to immune and inflammatory response in IVF implantation failure cases under controlled ovarian stimulation. *American Journal of Reproductive Immunology*. John Wiley & Sons, Ltd; 2017 Jul;78(1):e12679.
75. Paramonova NB, Kogan EA, Kolotovkina AV, Burmenskaya OV. [The morphological and molecular biological signs of impaired endometrial receptivity in infertility in women suffering from external genital endometriosis]. *Arkh Patol*. 2018;80(3):11–8.
76. Bastu E, Mutlu MF, Yasa C, Dural O, Nehir Aytan A, Celik C, et al. Role of Mucin 1 and Glycodelin A in recurrent implantation failure. *Fertil Steril*. 2015 Apr;103(4):1059–1064.e2.
77. Dorostghoal M, Ghaffari H-O-A, Marmazi F, Keikhah N. Overexpression of Endometrial Estrogen Receptor-Alpha in The Window of Implantation in Women with Unexplained Infertility. *Int J Fertil Steril*. 2018 Apr;12(1):37–42.
78. Liu X, Liu G, Zhu P, Wang Y, Wang J, Zhang W, et al. Characterization of seminal plasma proteomic alterations associated with the IVF and rescue-ICSI pregnancy in assisted reproduction. *Andrology*. John Wiley & Sons, Ltd; 2020 Mar;8(2):407–20.
79. Mosbah A, Nabil Y, Khashaba E. Interleukin-6, intracellular adhesion molecule-1, and glycodelin A levels in serum and peritoneal fluid as biomarkers for endometriosis. *Int J Gynaecol Obstet*. John Wiley & Sons, Ltd; 2016 Sep;134(3):247–51.
80. Nirgianakis K, McKinnon B, Ma L, Imboden S, Bersinger N, Mueller MD. Peritoneal fluid biomarkers in patients with endometriosis: a cross-sectional study. *Horm Mol Biol Clin Investig*. De Gruyter; 2020 May 7.
81. Focarelli R, Luddi A, De Leo V, Capaldo A, Stendardi A, Pavone V, et al. Dysregulation of GdA Expression in Endometrium of Women With Endometriosis: Implication for Endometrial Receptivity. *Reprod Sci*. Springer International Publishing; 2018 Apr;25(4):579–86.
82. Robert Koch Institut. Krebs in Deutschland für 2013/2014. 2017 Nov 16;:1–154.
83. Emons G, Steiner E. S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge der Patientinnen mit Endometriumkarzinom. *Gynäkologe*. Springer Medizin; 2018 Nov 30;51(12):996–9.
84. Furness S, Roberts H, Majoribanks J, Lethaby E, Hickey M, Farquhar C. Hormone therapy in postmenopausal women and risk of endometrial hyperplasia (updated). Furness S, editor. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2009;66(6):962.
85. Lacey JV, Jr, Sherman ME, Rush BB, Ronnett BM, Ioffe OB, et al. Absolute Risk of Endometrial Carcinoma During 20-Year Follow-Up Among Women With Endometrial Hyperplasia. *Journal of Clinical Oncology*. American Society of Clinical Oncology; 2010 Feb 10;28(5):788–92.

86. Smith-Bindman R, Kerlikowske K, Feldstein VA, Subak L, Scheidler J, Segal M, et al. Endovaginal Ultrasound to Exclude Endometrial Cancer and Other Endometrial Abnormalities. *JAMA*. American Medical Association; 1998 Nov 4;280(17):1510–7.
87. Denschlag D, Ulrich U, Emons G. Diagnostik und Therapie des Endometriumkarzinoms : Fortschritt und Kontroversen. *Deutsches Ärzteblatt*. 2011;208(34/35):571–7.
88. Santi A, Kuhn A, Gyr T, Eberhard M, Johann S, Günthert AR, et al. Laparoscopy or laparotomy? A comparison of 240 patients with early-stage endometrial cancer. *Surg Endosc*. Springer-Verlag; 2010 Apr;24(4):939–43.
89. Attard Montalto S, Coutts M, Devaja O, Summers J, Jyothirmayi R, Papadopoulos A. Accuracy of frozen section diagnosis at surgery in pre-malignant and malignant lesions of the endometrium. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2008;29(5):435–40.
90. ASTEC study group, Kitchener H, Swart AMC, Qian Q, Amos C, Parmar MKB. Efficacy of systematic pelvic lymphadenectomy in endometrial cancer (MRC ASTEC trial): a randomised study. *Lancet*. 2009 Jan 10;373(9658):125–36.
91. Mariani A, Dowdy SC, Cliby WA, Gostout BS, Jones MB, Wilson TO, et al. Prospective assessment of lymphatic dissemination in endometrial cancer: a paradigm shift in surgical staging. *Gynecol Oncol*. 2008 Apr;109(1):11–8.
92. Panici PB, Basile S, the FMJJO, 2008. Systematic pelvic lymphadenectomy vs no lymphadenectomy in early-stage endometrial carcinoma: randomized clinical trial. academicoup.com
93. Onkologie L. S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge der Patientinnen mit Endometriumkarzinom. 2018 May 3;:1–108.
94. Koistinen H, Seppälä M, Nagy B, Tapper J, Knuutila S, Koistinen R. Glycodelin reduces carcinoma-associated gene expression in endometrial adenocarcinoma cells. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. Elsevier; 2005 Dec 1;193(6):1955–60.
95. Shabani N, Kuhn C, Kunze S, Schulze S, Mayr D, Dian D, et al. Prognostic significance of oestrogen receptor alpha (ERalpha) and beta (ERbeta), progesterone receptor A (PR-A) and B (PR-B) in endometrial carcinomas. *Eur J Cancer*. 2007 Nov;43(16):2434–44.
96. Deligdisch L, Holinka CF. Endometrial carcinoma: two diseases? *Cancer Detect Prev*. 1987;10(3-4):237–46.
97. Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*. 1983 Feb;15(1):10–7.
98. Creasman WT. Endometrial cancer: incidence, prognostic factors, diagnosis, and treatment. *Semin Oncol*. 1997 Feb;24(1 Suppl 1):S1–140–S1–50.

99. Calle EE, Kaaks R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nat Rev Cancer*. Nature Publishing Group; 2004 Aug 1;4(8):579–91.
100. Wild S, Pierpoint T, Jacobs H, McKeigue P. Long-term consequences of polycystic ovary syndrome: results of a 31 year follow-up study. *Hum Fertil (Camb)*. 2000;3(2):101–5.
101. Beral V, Bull D, Reeves G, Million Women Study Collaborators. Endometrial cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet*. 2005 May;365(9470):1543–51.
102. Kumar S, Shah JP, Bryant CS, Seward S, Ali-Fehmi R, Morris RT, et al. Radiation-Associated Endometrial Cancer. *Obstet Gynecol*. 2009 Feb 1;113(2):319–25.
103. Nicholas Z, Hu N, Ying J, Soisson P, Dodson M, Gaffney DK. Impact of Comorbid Conditions on Survival in Endometrial Cancer. *American Journal of Clinical Oncology*. 2014 Apr 1;37(2):131–4.
104. Tse JY, Chiu, P. C., Lee KF, Seppala M, Koistinen H, Koistinen R, et al. The synthesis and fate of glycodeilin in human ovary during folliculogenesis. *Mol Hum Reprod*. 2002nd ed. 2002 Feb;8(2):142–8.
105. Chiu PCN, Chung M-K, Koistinen R, Koistinen H, Seppälä M, Ho P-C, et al. Cumulus oophorus-associated glycodeilin-C displaces sperm-bound glycodeilin-A and -F and stimulates spermatozoa-zona pellucida binding. *J Biol Chem [Internet]*. 2006 ed. 2007 Feb 23;282(8):5378–88.
106. Lenhard M, Heublein S, Kunert-Keil C, Vrekoussis T, Lomba I, Ditsch N, et al. Immunosuppressive Glycodeilin A is an independent marker for poor prognosis in endometrial cancer. *BMC Cancer*. 7 ed. 2013 Dec 30;13(1):616.
107. Hautala LC, Koistinen R, Seppälä M, Bützow R, Stenman U-H, Laakkonen P, et al. Glycodeilin reduces breast cancer xenograft growth in vivo. *Int J Cancer*. 2008 Nov 15;123(10):2279–84.
108. Jeschke U, Mylonas I, Kunert-Keil C, Dazert E, Shabani N, Werling M, et al. Expression of glycodeilin protein and mRNA in human ductal breast cancer carcinoma in situ, invasive ductal carcinomas, their lymph node and distant metastases, and ductal carcinomas with recurrence. *Oncol Rep [Internet]*. 2005 ed. 2005 Mar;13(3):413–9.
109. Mandelin E, Lassus H, Seppälä M, Leminen A, Gustafsson J-A, Cheng G, et al. Glycodeilin in ovarian serous carcinoma: association with differentiation and survival. *Cancer Res [Internet]*. 2003 Oct 1;63(19):6258–64.
110. Schneider MA, Muley T, Weber R, Wessels S, Thomas M, Herth FJF, et al. Glycodeilin as a Serum and Tissue Biomarker for Metastatic and Advanced NSCLC. *Cancers (Basel)*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute; 2018 Dec 4;10(12):486.
111. Ho M-L, Kuo W-K, Chu LJ, Yeh I-H, Fan C-W, Chang H-I, et al. N-acetylgalactosamine-6-sulfatase (GALNS), Similar to Glycodeilin, Is a Potential

- General Biomarker for Multiple Malignancies. *Anticancer Res. International Institute of Anticancer Research*; 2019 Nov;39(11):6317–24.
112. Cui J, Liu Y, Wang X. The Roles of Glycodelin in Cancer Development and Progression. *Front Immunol. Frontiers*; 2017;8:1685.
 113. Janke F, Bozorgmehr F, Wrenger S, Dietz S, Heussel CP, Heussel G, et al. Novel Liquid Biomarker Panels for A Very Early Response Capturing of NSCLC Therapies in Advanced Stages. *Cancers (Basel). Multidisciplinary Digital Publishing Institute*; 2020 Apr 12;12(4):954.
 114. Schneider MA, Granzow M, Warth A, Schnabel PA, Thomas M, Herth FJF, et al. Glycodelin: A New Biomarker with Immunomodulatory Functions in Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res. American Association for Cancer Research*; 2015 Aug 1;21(15):3529–40.
 115. Ni Z, Zhang L, Zheng J, Su X, Zhang S. Glycodelin As A Biomarker Of Advanced Lung Adenocarcinoma Brain Metastases In Patients Treated With EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors. *Cancer Manag Res. Dove Press*; 2019;11:9421–5.
 116. Weber R, Meister M, Muley T, Thomas M, Sülthmann H, Warth A, et al. Pathways regulating the expression of the immunomodulatory protein glycodelin in non-small cell lung cancer. *Int J Oncol. Spandidos Publications*; 2019 Feb;54(2):515–26.
 117. Schneider MA, Muley T, Kahn NC, Warth A, Thomas M, Herth FJF, et al. Glycodelin is a potential novel follow-up biomarker for malignant pleural mesothelioma. *Oncotarget. Impact Journals*; 2016 Nov 1;7(44):71285–97.
 118. Galanis E, Jaeckle KA, Maurer MJ, Reid JM, Ames MM, Hardwick JS, et al. Phase II trial of vorinostat in recurrent glioblastoma multiforme: a north central cancer treatment group study. *J Clin Oncol. American Society of Clinical Oncology*; 2009 Apr 20;27(12):2052–8.
 119. Traynor AM, Dubey S, Eickhoff JC, Kolesar JM, Schell K, Huie MS, et al. Vorinostat (NSC# 701852) in patients with relapsed non-small cell lung cancer: a Wisconsin Oncology Network phase II study. *J Thorac Oncol.* 2009 Apr;4(4):522–6.
 120. Garcia-Manero G, Tambaro FP, Bekele NB, Yang H, Ravandi F, Jabbour E, et al. Phase II trial of vorinostat with idarubicin and cytarabine for patients with newly diagnosed acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndrome. *J Clin Oncol. American Society of Clinical Oncology*; 2012 Jun 20;30(18):2204–10.
 121. Uchida H, Maruyama T, Nagashima T, Asada H, Yoshimura Y. Histone deacetylase inhibitors induce differentiation of human endometrial adenocarcinoma cells through up-regulation of glycodelin. *Endocrinology.* 2005 Dec;146(12):5365–73.
 122. Uchida H, Maruyama T, Ono M, Ohta K, Kajitani T, Masuda H, et al. Histone deacetylase inhibitors stimulate cell migration in human endometrial

- adenocarcinoma cells through up-regulation of glycodelin. *Endocrinology*. 2007 Feb;148(2):896–902.
123. Uchida H, Maruyama T, Ohta K, Ono M, Arase T, Kagami M, et al. Histone deacetylase inhibitor-induced glycodelin enhances the initial step of implantation. *Hum Reprod*. 2007 Oct;22(10):2615–22.
 124. Suraweera A, O'Byrne KJ, Richard DJ. Combination Therapy With Histone Deacetylase Inhibitors (HDACi) for the Treatment of Cancer: Achieving the Full Therapeutic Potential of HDACi. *Frontiers in Oncology*. *Frontiers*; 2018;8:92.
 125. Edwards K, Yao S, Pisano S, Feltraccao V. Nanoparticle encapsulation of HDACi with HA targeting in endometrial cancer models. 2020.
 126. Scholz C, Heublein S, Lenhard M, Friese K, Mayr D, Jeschke U. Glycodelin A is a prognostic marker to predict poor outcome in advanced stage ovarian cancer patients. *BMC Res Notes*. *BioMed Central*; 2012 Oct 5;5(1):551–8.
 127. Mandelin E, Lassus H, Seppälä M, Leminen A, Gustafsson J-A, Cheng G, et al. Glycodelin in Ovarian Serous Carcinoma: Association with Differentiation and Survival. *Cancer Res*. *American Association for Cancer Research*; 2003 Oct 1;63(19):6258–64.
 128. Hautala LC, Greco D, Koistinen R, Heikkinen T, Heikkilä P, Aittomäki K, et al. Glycodelin expression associates with differential tumour phenotype and outcome in sporadic and familial non breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*. *Springer US*; 2010 Jul 30;128(1):85–95.
 129. Lapid K, Sharon N. Meet the multifunctional and sexy glycoforms of glycodelin. *Glycobiology*. 2005 ed. 2006 Mar;16(3):39R–45R.

9 Weitere Verzeichnisse

9.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Die Struktur von Glycodelin (aus Seppala, Taylor et al 2002).....	35
Abbildung 2 Glycodelinkonzentration bei Frauen. A: Serum in Bezug auf Ovulation und Progesteronsekretion. B: Endometrium und Amnionflüssigkeit.....	36
Abbildung 3 Stadienabhängige operative Therapie des Endometriumkarzinoms. Aus: Denschlag et al., The diagnosis and treatment of endometrial cancer: progress and controversies Dsch Arztebl Int 2011	39
Abbildung 4 Nachweis von Gd mRNA in Endometriumkarzinomen mittels in situ Hybridisierung (aus Lenhard et al. BMC Cancer 2013, 13:616. http://www.biomedcentral.com/1471-2407/13/616)	40
Abbildung 5 Nachweis von Gd und GdA Protein in Endometriumkarzinomen mittels Immunhistochemie (aus Lenhard et al. BMC Cancer 2013, 13:616. http://www.biomedcentral.com/1471-2407/13/616)	40
Abbildung 6 Analyse und Quantifizierung von Gd und GdA in Endometriumkarzinomgewebe (aus Lenhard et al. BMC Cancer 2013, 13:616. http://www.biomedcentral.com/1471-2407/13/616)	41
Abbildung 7 Kaplan Meier Überlebensanalyse für Gd und GdA Proteinexpression in Endometriumkarzinompatientinnen (aus Lenhard et al. BMC Cancer 2013, 13:616. http://www.biomedcentral.com/1471-2407/13/616).....	41
Abbildung 8 Zusatzmaterial: Repräsentative Mikrophotographie von positiven (A,B) und negativen Kontrollen (C,D) für Gd (A,C) und GdA (B,D)	43
Abbildung 9 Zusatzmaterial 2: Repräsentative Mikrophotographien von Gd (A,C) und GdA (B,D) von hoher Anfärbbarkeit (A,B; high IRS) und schwache/negative Anfärbbarkeit (C,D; low IRS) in Gewebeschnitten	44
Abbildung 10 Zusatzmaterial 3: Repräsentative Mikrophotographien von Gd (A) und GdA (B) in undifferenzierten Endometriumkarzinomproben (aus Lenhard et al. BMC Cancer 2013, 13:616. http://www.biomedcentral.com/1471-2407/13/616).....	44
Abbildung 11 Zusatzmaterial 4: Repräsentative Mikrophotographien von Gd (A,C) und GdA (B,D) in fortgeschrittenem Stadium (A,B) und frühem Stadium (C,D) (aus Lenhard et al. BMC Cancer 2013, 13:616. http://www.biomedcentral.com/1471-2407/13/616).....	45

9.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Materialien für die in situ Hybridisierung	20
Tabelle 2 Patientencharakteristika: Immunhistochemische Anfärbung für Östrogen Rezeptoren (ER) (ER alpha, ER beta), und Progesteronrezeptoren (PR) (PR-A und PR-B) wie bereits zuvor veröffentlicht (95).....	27
Tabelle 3 Expressionsorte von Glycodelin, aus (129)	34
Tabelle 4 Glycodelin Konzentrationen in verschiedenen Geweben und Körperflüssigkeiten, aus.....	36
Tabelle 5 Vergleich der FIGO Klassifikationen. Aus: Denschlag et al., The diagnosis and treatment of endometrial cancer:progress and controversies Dsch Arztebl Int 2011(87).....	37
Tabelle 6 Adjuvante Therapien des Endometriumkarzinoms. Aus: Denschlag et al., The diagnosis and treatment of endometrial cancer: progress and controversies Dsch Arztebl Int 2011(87).....	38

9.3 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
AS	Aminosäure
BMI	Body Mass Index
bp	Basenpaare
Da	Dalton
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ER	Östrogenrezeptor
FIGO	Federation Internationale des Gynecologues
GALNS	N-acetylgalactosamine-6-sulfatase
Gd	Glycodelin
GdA	Glycodelin A
GdF	Glycodelin F
GdS	Glycodelin S
HELLP-Syndrom	Hemolysis, elevated liver enzymes, low platelets syndrome
Histon-Deacetylase-Inhibitoren	HDACIs
ICD	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems
ISH	In situ Hybridisierung
IUGR	Intrauterine growth restriction
IVF	In vitro fertilization
kDa	kilo Dalton
LH	luteinisierendes Hormon
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität

mRNA	messenger Ribonukleinsäure
NSCLC	Nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom (non small cell lung carcinoma)
MUC-1	Mucin 1
PAEP	progesteron-associated endometrial protein
PCO-Syndrom	Syndrom der polyzystischen Ovarien
PE	Präeklampsie
PEP	progesteron-dependent endometrial protein
pI	isoelektrischer Punkt
PP14	placental protein 14
PPROM	preterm premature rupture of membranes
PR	Progesteronrezeptor
RIF	recurrent implantation failure
SI	stainig intensity
β-LG	β-Laktoglobulin

10 Eidesstattliche Versicherung



LUDWIG-
MAXIMILIANS-
UNIVERSITÄT
MÜNCHEN

Promotionsbüro
Medizinische Fakultät



Eidesstattliche Versicherung

Aue

Name, Vorname

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

*Expression und prognostische Bedeutung von Glycodelin
beim Endometriumkarzinom*

selbständig 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.

Ort, Datum

Isabel Auer

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand

11 Danksagung

Mein ganz herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. Udo Jeschke, Leiter des interdisziplinären onkologischen Forschungslabors des Universitätsklinikums Augsburg (vormals Leiter des wissenschaftlichen Labors der I. Frauenklinik, LMU München), für die Überlassung des Themas, seine äußerst geduldige Betreuung und wertvolle Unterstützung und seine konstruktiven Kritiken.

Ebenfalls gilt mein Dank Frau PD Dr. Christiane Kunert-Keil, Forschungslaborleiterin der Poliklinik für Kieferorthopädie/Bereich Orale Biologie der Universitätsklinik Dresden für die intensive Betreuung und Unterstützung während meines Forschungssemester im Pathophysiologischen Institut in Karlsburg.

Bedanken möchte ich mich auch bei den Medizinischen Technischen Assistentinnen des wissenschaftlichen Labors der I. Frauenklinik (LMU München), insbesondere Christina Kuhn, für die Unterstützung bei der Durchführung der Immunhistochemie.