

Aus der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
der Universität zu Köln

Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. P. Mallmann

Der Einfluss der peritumoralen Lymphgefäßdichte auf das Tumorstadium
und Outcome von Patientinnen mit Endometriumkarzinom

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Universität zu Köln

vorgelegt von
Marion Kremer-Maas
aus Vreden

promoviert am 9. November 2018

Aus der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
der Universität zu Köln

Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. P. Mallmann

Der Einfluss der peritumoralen Lymphgefäßdichte auf das Tumorstadium
und Outcome von Patientinnen mit Endometriumkarzinom

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Universität zu Köln

vorgelegt von
Marion Kremer-Maas
aus Vreden

promoviert am 9. November 2018

Schaten Offsetdruck KG
Bahnhofstraße 25, 48683 Ahaus

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität zu Köln
Druckjahr: 2018

Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. Dr. h. c. Th. Krieg

1. Berichterstatterin: Privatdozentin Dr. med. V. Kirn
2. Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. med. J. Wolf

Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich Unterstützungsleistungen von folgenden Personen erhalten: Dr. med. C. Fridrich, Dr. med. B. Markiefka, Dr. med. K. Kübler, Dr. rer. nat. F. Bock, Privatdozentin Dr. med. V. Kirn sowie Universitätsprofessor Dr. med. P. Mallmann.

Weitere Personen waren an der geistigen Herstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin / eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis:

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten. (http://typo3-8169.rrz.uni-koeln.de/fileadmin/templates/uni/PDF/Ordnung_gute_wiss_Praxis.pdf) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Köln, den 19.12.2017

Marion Kremer-Maas

Die Themenauswahl der Arbeit erfolgte auf Anregung von Dr. med. C. Fridrich.

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Patientendaten (Tumorstadium, Follow-up) wurden ohne meine Mitarbeit in der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe in Köln sowie auch in Bonn erhoben.

Die Antikörperfärbungen der Patientinnen welche an der Universitätsklinik in Köln behandelt wurden sind nach sorgfältiger Schnittauswahl durch mich ohne meine Mitarbeit im Institut für Pathologie (Frau Dr. med. B. Markiefka) sowie im CORIC (Cologne Ophthalmological Reading and Image Analysis Center, Dr. rer. nat. F. Bock) angefertigt worden.

Die histologischen Schnitte der Uniklinik Bonn wurden ohne meine Mitarbeit ausgewählt und immunhistochemisch gefärbt. Im Rahmen der Kooperation des CIO (Centrum für Integrierte Onkologie Köln Bonn) wurden mir diese zur Verstärkung der Aussagekraft meiner Arbeit von Frau Dr. med. K. Kübler überlassen.

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Datenerhebungen in Form einer Auswertung der Tumorschnitte sind von mir selbst nach entsprechender Anleitung durch Herrn Dr. med. C. Fridrich ausgeführt worden.

Danksagung

Herrn Dr. med. C. Fridrich danke ich für die Überlassung des Themas.

Herrn Dr. med. C. Fridrich sowie Frau Privatdozentin Dr. med. V. Kirn danke ich für ihre ausgezeichnete Betreuung und Unterstützung bei der Durchführung der gesamten Arbeit.

Ebenfalls möchte ich mich ganz herzlich bei Frau Dr. med. B. Markiefka sowie allen Mitarbeitern des pathologischen Instituts bedanken, ohne die eine Anfärbung der Gewebeschnitte mit spezifischen Antikörpern nicht möglich gewesen wäre.

Des Weiteren gilt mein Dank Frau Dr. med. K. Kübler, welche mir im Rahmen des CIO die Möglichkeit gab, weitere Patientinnen welche in der Uniklinik in Bonn behandelt wurden in meine Analyse mit einzubeziehen.

Abschließend möchte ich mich noch bei Herrn Dr. rer. nat. F. Bock und seinem Team (CORIC – Cologne Ophthalmological Reading and Image Analysis Center, Experimental Ophthalmology) bedanken, welcher mir die LYVE-1 Antikörperfärbung ermöglicht hat.

Widmung

Meinen lieben Eltern

Inhalt

1	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	8
2	EINLEITUNG	9
2.1	Epidemiologie	9
2.2	Histologische und pathologische Klassifikation des Endometriumkarzinoms	10
2.2.1	Histologische Klassifikation	10
2.2.2	Überleben und Prognose anhand der histologischen Klassifikation	11
2.2.3	FIGO-Klassifikation	12
2.3	Risikofaktoren des Endometriumkarzinoms	14
2.4	Protektive Faktoren	15
2.4.1	Primär protektive Faktoren	15
2.4.2	Sekundär protektive Faktoren	16
2.5	Klinik und Diagnostik des Endometriumkarzinoms	16
2.6	Operative Methoden	17
2.7	Strahlentherapie	18
2.8	Chemotherapie	18
2.9	Nachsorge	18
2.10	Endometrium und Lymphgefäßversorgung	19
2.11	Lymphogene Metastasierung	21
2.12	Ziel der Arbeit	22
3	MATERIAL UND METHODEN	22
3.1	Selektion der Fälle	22
3.2	Definition der Tumorregion und der Lymphgefäßdichte	23
3.3	Aufarbeitung der histologischen Präparate	24

3.4	Histologische Darstellung des EC mit Hämatoxylin-Eosin (HE) sowie immunhistochemisch mit D2-40	25
4	ERGEBNIS	28
4.1	Histopathologische Klassifikation der Fälle	28
4.2	Outcome der Patientinnen in Abhängigkeit der histopathologischen Befunde	29
4.3	Gesamtüberleben bezogen auf die FIGO-Klassifikation	31
4.4	Outcome in Abhängigkeit von hoher und niedriger Lymphgefäßdichte	33
5	DISKUSSION	37
5.1	Motivation für die Fragestellung und wichtige Ergebnisse	37
5.2	Analyse der Ergebnisse und selbstkritische Reflexion	38
5.3	Weitere prognostische Faktoren des EC und allgemeiner Tumorentitäten	42
5.4	Ausblick und Limitationen	45
6	ZUSAMMENFASSUNG	47
7	LITERATURVERZEICHNIS	49

1 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

1. D2-40: Podoplanin
2. EC: Endometriumkarzinom
3. HE-Färbung: Hämatoxylin-Eosin-Färbung
4. HNPCC: hereditäres non-polypöses Kolonkarzinom
5. LG-Dichte: Lymphgefäßdichte
6. LYVE-1: Lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor 1
7. OS: Overall survival
8. RFS: Recurrence free survival

2 EINLEITUNG

2.1 Epidemiologie

Weltweit werden pro Jahr 142.000 Erstdiagnosen eines Endometriumkarzinoms (EC) gestellt [1]. In hochentwickelten industrialisierten Staaten ist das EC die zweithäufigste gynäkologische Tumorerkrankung [2]. Durch das sehr verbreitete und häufige Vorkommen des EC versterben weltweit jährlich ca. 42.000 Frauen an dessen Folgen [1].

Am häufigsten wird das EC bei Frauen im Klimakterium oder in einem fortgeschrittenem Lebensabschnitt diagnostiziert. Der Erkrankungsgipfel liegt im Alter zwischen 70-80 Jahren [1]. Das EC hat insgesamt eine gute Prognose, da die meisten Erstmanifestationen durch frühes Auftreten von Symptomen in einem Anfangsstadium der Krankheitsentwicklung diagnostiziert werden [1]. Das häufigste Früh- und Leitsymptom im Rahmen einer EC-Erkrankung ist eine abnormale uterine Blutung [3]. Durch die frühe klinische Manifestation von Symptomen und einer folglich frühzeitigen Behandlung lässt sich auch die durchschnittliche 5-Jahres-Überlebensrate von 80 % erklären [1].

In Deutschland erkranken jährlich ca. 11 600 Frauen an einem EC (dies entspricht 17,9 Neuerkrankungen pro 100 000 Einwohner) [4]. Die Mortalitätsrate der erkrankten Patientinnen beläuft sich auf ca. 2400/Jahr (2,9 pro 100 000 Einwohner), wobei das mittlere Alter der verstorbenen Patientinnen bei 76 Jahren liegt [4]. Dies macht erneut deutlich, dass mit steigendem Alter das Risiko für ein EC steigt. Im Vergleich dazu liegt das mittlere Mortaltätsalter beim Zervixkarzinom bei 66 Jahren [4].

Jedoch ist die Mortalitätsrate von 1998 bis 2009 aufgrund von frühzeitiger Diagnostik und aufgrund eines verbesserten Therapieregimes bereits um ca. 30 % reduziert worden [4].

2.2 Histologische und pathologische Klassifikation des Endometriumkarzinoms

2.2.1 *Histologische Klassifikation*

Beim EC lassen sich anhand der histologischen Klassifikation zwei Typen unterscheiden. Das Typ-1-EC ist das klassische östrogenabhängige Endometriumkarzinom, welches auf dem Boden einer Hyperplasie-Karzinom-Sequenz entsteht [5]. Durch Östrogenstimulation entwickelt sich über eine Hyperplasie bzw. einer Hyperplasie mit Atypien das invasive Karzinom. Die Östrogenwirkung kann sowohl endogener als auch exogener Natur sein [5]. Eine Hyperplasie des Endometriums kann beim Typ-1-EC durch eine Unterbrechung in der Genexpression wie z.B. des PTEN Tumorsuppressorgens, durch Defekte in der DNA oder Mutationen im KRAS2-Onkogen entstehen [6]. Ebenfalls kann eine Mutation im CTNNB1-Gen ursächlich sein [7]. Die überwiegende Zahl der entarteten Zellen des Typ-I-EC hat einen diploiden Chromosomensatz (Karyotyp) [8]. Aus einer Hyperplasie kann im weiteren Verlauf eine intraepitheliale Neoplasie und unter weiterer Progression ein Karzinom entstehen [6]. Typ-1-Endometriumkarzinome stellen sich histologisch als endometrioide Endometriumkarzinome dar und sind mit einem Anteil von 80% aller Gesamterkrankungen am häufigsten [5]. Der Grund für die gute Prognose des Typ-1-EC ist ein niedriges Tumorstadium bei Diagnosestellung sowie eine geringere Tendenz zur Metastasierung [1].

Das Typ-II-EC hingegen ist nicht östrogenbedingt und stellt sich histologisch häufig als ein seröses oder klarzelliges Karzinom dar [5]. Ein ursächlicher Faktor für die Entstehung eines Typ-II-EC sind Mutationen im TP53 und Her-2/neu –Gen [6]. Des Weiteren kann eine Überexpression von p16 ein Typ-II-EC begünstigen [9]. Postmenopausal ist das Typ-II-EC im Gegensatz zum Typ-I-EC meist pathophysiologisch mit einer Atrophie des Endometriums assoziiert [1]. Beim Typ-II-EC ist der Chromosomensatz (Karyotyp) nicht-diploid [8]. Das Typ-II-EC wird als die aggressivere histologische Tumorform eingestuft, da Patientinnen mit dieser histologischen Klassifikation häufiger ein Rezidiv sowie eine Metastasierung aufweisen [1]. Folglich liegt beim Typ-II-EC eine schlechtere Ausgangsprognose vor.

2.2.2 Überleben und Prognose anhand der histologischen Klassifikation

Das Typ-I-EC hat aufgrund seiner geringen Invasivität, seiner höheren Differenzierung sowie einer frühen Diagnosestellung eine sehr gute Prognose [5]. Die 5-Jahres-Überlebensrate bezüglich des histologischen Typ 1 beträgt 85,6 %.

Tumoren des histologischen Typ 2 hingegen sind häufig nur gering differenziert (high grade G3, 62,5%), wachsen sehr invasiv in das Myometrium (65,7%) und haben eine starke Tendenz in pelvine Lymphknoten zu metastasieren (27,8 %)[5]. Patientinnen mit diesem histologischen Typ haben eine deutlich schlechtere Prognose. Die 5-Jahres-Überlebensrate beträgt hier lediglich noch 58,8 %.

2.2.3 FIGO-Klassifikation

Das EC wird wie in der folgenden Tabelle 1 dargestellt nach der FIGO-Klassifikation (International Federation of Gynecology and Obstetrics) eingeteilt:

„

FIGO-Stadium	Beschreibung
a	Carcinoma in Situ
I	Tumor begrenzt auf Corpus uteri
IA	Tumor begrenzt auf das Endometrium oder infiltriert weniger als die Hälfte des Myometriums
IB	Tumor infiltriert die Hälfte oder mehr des Myometriums
II	Tumor infiltriert das Stroma der Cervix uteri, breitet sich aber nicht jenseits des Uterus aus
III	Lokale und/oder regionäre Ausbreitung, wie nachfolgend beschrieben
IIIA	Tumor befällt Serosa des Corpus uteri und/oder der Adnexe (direkte Ausbreitung oder Metastasen)
IIIB	Vaginalbefall und /oder Befall der Parametrien (direkte Ausbreitung oder Metastasen)
IIIC	Metastasen in Becken- und/oder

	paraaortalen Lymphknoten
IIIC1	Metastasen in Beckenlymphknoten
IIIC2	Metastasen in paraaortalen Lymphknoten mit/ohne Metastasen in Beckenlymphknoten
IV	Tumor infiltriert Blasen- und/oder Darmschleimhaut

Tabelle 1: Tumorstadium nach FIGO-Klassifikation

N – regionäre Lymphknoten	Beschreibung
NX	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Regionäre Lymphknotenmetastasen

Tabelle 2: Lymphknotenbefall nach FIGO-Klassifikation

M-Fernmetastasen	Beschreibung
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen (ausgenommen Metastasen in der Vagina, der Beckenserosa oder den Adnexen, einschließlich Metastasen in inguinalen Lymphknoten und/oder Metastasen in anderen intraabdominalen

	Lymphknoten als den paraaortalen und/oder Beckenlymphknoten)
--	--

Tabelle 3: Fernmetastasen nach FIGO-Klassifikation

Horn, L.-C.; Schierle, K.; Schmidt, D.; Ulrich, U.; Liebmann, A.; Wittekind, C. [Current TNM/FIGO classification for cervical and endometrial cancer as well as malignant mixed müllerian tumors. Facts and background]. Pathol. 2011, 32, 239–243

„ [10]

2.3 Risikofaktoren des Endometriumkarzinoms

Einer der häufigsten Risikofaktoren für die Entwicklung eines EC ist eine individuelle Stoffwechsellage wie z.B. bei Adipositas. Adipositas kann vor der Menopause zu einer Insulinresistenz und somit zur Entwicklung eines Diabetes mellitus führen [1]. Postmenopausal führt Adipositas zu einer höheren Freisetzung von Östrogenen [1]. Aufgrund eines dadurch erhöhten Östrogenspiegels kommt es zu einer erhöhten Zellproliferation des Endometriums sowie zu einer verminderten Apoptosefähigkeit [1]. Folglich erkranken Frauen mit einem BMI ab 25 kg/m² zweimal häufiger an einem EC als normalgewichtige Frauen [15]. Frauen ab einem BMI von 30kg/m² haben ein dreifach höheres Risiko an einem EC zu erkranken [15]. Weitere gynäkologische Risikofaktoren sind eine späte Menopause, ein hohes Lebensalter sowie Nulliparität oder Infertilität [9]. Auch eine vorhandene arterielle Hypertonie geht gegenüber einem normotonen Blutdruck mit einem 3,5-fach erhöhtem Risiko für ein EC einher [16].

Ein erhöhtes Erkrankungsrisiko ist ebenfalls bei Personen in direkter Verwandtschaft (1. Grades) beschrieben [13]. Familiäre genetische Syndrome wie das autosomal-dominant vererbte Lynch-Syndrom

(HNPPC) zeigen ebenfalls eine Assoziation für die Entstehung eines EC [14]. Eine Diagnostik auf HNPPC wird bei Frauen empfohlen, die zum Zeitpunkt der Erstdiagnose eines EC das 45. Lebensjahr noch nicht vollendet haben [15].

Ein iatrogener Risikofaktor für die Entwicklung eines EC ist die Einnahme von Östrogenmonopräparaten [10]. Eine Östrogen-Monotherapie hat im Gegensatz zu einer kombinierten Hormontherapie (z.B. aus Östrogenen und Progesteron) ein 2-3 Fach erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines EC [11]. Ein weiterer iatrogener Risikofaktor wäre eine Therapie mit selektiven Östrogenrezeptormodulatoren (z.B. Tamoxifen) welche bei der Therapie des Mammakarzinoms zum Tragen kommen [10]. Tamoxifen fördert die Proliferation des Endometriums und kann somit zu einer Hyperplasie des Endometriums und infolge der Hyperplasie-Karzinom-Sequenz auch zur Entstehung eines EC beitragen.

2.4 Protektive Faktoren

2.4.1 *Primär protektive Faktoren*

Ein prophylaktischer Effekt zur Vermeidung eines EC ist durch die Einnahme von Kontrazeptiva zu erzielen [11]. Der protektive Effekt wird der Kombination des Östrogen mit einem Gestagen zugeschrieben [12].

Des Weiteren konnte das Rauchen von Zigaretten – anders als bei anderen Krebsarten - als protektiver Faktor definiert werden, da Nikotin den Östrogenstoffwechsel negativ beeinflusst und es durch das Rauchen zur einer geringeren Freisetzung von Östrogenen kommt [13] [14]. Eine Schwangerschaft in einem fortgeschrittenem mütterlichen Alter reduziert ebenfalls das Risiko an einem EC zu erkranken [15]. Normalgewicht gilt als protektiver Faktor, da es die Freisetzung von Östrogenen vermindert [16].

Wie auch bei anderen Tumorentitäten kann körperliche Aktivität der Manifestation eines Krebsleidens (EC) entgegen wirken [17].

2.4.2 *Sekundär protektive Faktoren*

Ein generelles Screening im Rahmen einer transvaginalen Ultraschallkontrolle kann für das EC nicht empfohlen werden [18]. Vielmehr korreliert die Dauer einer uterinen Blutung mit der 5-Jahres-Überlebensrate. So kommt eine Studie zu dem Ergebnis, dass die 5-Jahres-Überlebensrate mit zunehmender Dauer einer uterinen Blutung sinkt [18].

Wichtig ist in diesem Zusammenhang eine gute Aufklärung der Patientinnen über eine mögliche postmenopausale Blutung und deren unbedingte Abklärungsbedürftigkeit.

2.5 Klinik und Diagnostik des Endometriumkarzinoms

Ca. 90 % der Frauen mit einem EC stellen sich zunächst mit einer abnormalen uterinen Blutung beim Gynäkologen vor [5]. Eine abnormale uterine Blutung zeigt sich im Frühstadium des EC und ist somit ein guter Parameter für Diagnose und Prognose [3]. Alle Patientinnen mit einer postmenopausalen Blutung oder prämenopausalen Blutungsanomalien sollen einer weiteren Diagnostik zugeführt werden [1]. Bei einem Verdacht auf ein EC soll deshalb zunächst ein transvaginaler Ultraschall durchgeführt werden [19]. Eine Probebiopsie des Endometriums ist bei einer abnormen Blutung obligat, da die Diagnose des EC histologisch gesichert wird [20].

Ein weiteres Symptom sind abnorme Zytologien. So können sich beim Adenokarzinom des Endometriums Krebszellen im Cervixabstrich zeigen

[21]. Befinden sich atypische glanduläre Zellen oder endometrioide Zellen im Cervixabstrich bedarf es ebenfalls einer Biopsie des Endometriums um sich entwickelnde Neoplasien auszuschließen [21].

Allerdings hat der Pap-Abstrich der Zervix aufgrund der niedrigen Sensitivität keinen Stellenwert in der Früherkennung oder Routinediagnostik bezogen auf das EC [22].

Bezüglich des Endometriumkarzinoms kann aktuell keine generelle Diagnostik im Rahmen eines Screenings empfohlen werden [23]. Ebenfalls liegt keine signifikante Mortalitätsverminderung für ein Screening der Hochrisikopatienten vor [24] .

Im Gegensatz zu symptomatischen Patientinnen zeigen asymptomatische Patientinnen histologisch besser differenzierte Tumoren des Endometriums [25]. Prognostisch gesehen, kann jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen asymptomatisch und symptomatischen Patientinnen eruiert werden [25].

2.6 Operative Methoden

Der Goldstandard in der operativen Therapie des EC ist eine Hysterektomie mit peritonealer Spülzytologie sowie beidseitiger Salpingektomie und Adnexektomie [1]. Bei makroskopisch unauffällig aussehenden Lymphknoten sowie dem Tumorstadium pT1a mit einem Grading G1 oder G2 ist eine Lymphonodektomie nicht vorgesehen [26]. Patientinnen mit einem EC im Tumorstadium $\geq$ pT1b, G3 oder des histologischen Typ eines klarzelligen oder serösen EC werden einer pelvinen sowie paraaortalen Lymphonodektomie zugeführt [26]. Zusätzlich wird bei allen klarzelligen und serösen EC die Entnahme von Peritonealbiopsien sowie eine Omentektomie empfohlen [26].

2.7 Strahlentherapie

Eine Strahlentherapie wird häufig dann durchgeführt, wenn die Patientinnen aufgrund multipler Vorerkrankungen nicht operationsfähig sind [26]. Patientinnen mit einem geringen Risiko für ein rezidivierendes Tumorleiden (pT1a, G1, G2) erhalten keine Strahlentherapie [26]. Patientinnen mit einem höheren Tumorstadium (pT1b, G3) werden nach der Operation einer adjuvanten Brachytherapie zugeführt [26]. Ab dem Tumorstadium III wird eine Teletherapie (ggf. Brachytherapie) empfohlen [26]. Im fortgeschrittenen Stadium IV wird vorwiegend eine palliative Strahlentherapie durchgeführt [26].

2.8 Chemotherapie

Eine adjuvante Chemotherapie wird für Patientinnen mit den Tumorstadien IB, II, III, G3 sowie für klarzellige und seröse EC empfohlen und wird additiv zur Strahlentherapie durchgeführt [26]. Am häufigsten kommt hier die Verwendung einer Kombination aus Platin und Paclitaxel zum Tragen [26].

Ebenfalls kann im Stadium IV a eine Chemotherapie und additiv dazu eine Strahlentherapie erfolgen [26].

2.9 Nachsorge

Aufgrund einer möglichen kurativen Behandlung von klinisch früh manifesten Rezidiven/Metastasen wird den Patientinnen in den ersten 12-36 Monaten nach erfolgter primärer Therapie eine Vorstellung pro Quartal beim Gynäkologen empfohlen [26]. Im Rahmen dieser Vorstellung erfolgt eine SpekulumEinstellung sowie eine vaginale und rektale Untersuchung [26]. Bei symptomatischen Patientinnen kann eine Bildgebung indiziert sein [26].

2.10 Endometrium und Lymphgefäßversorgung

Die Uterusschleimhaut (Endometrium) legt sich mit ihrer Basalzellschicht dem Myometrium direkt an [27]. Klassischerweise besitzt die Uterusschleimhaut ein einschichtiges prismatisches Oberflächenepithel mit Flimmerzellen und vorhandenen tubulösen Drüsen (welche im gesamten Endometrium zu finden sind) [27]. Die Lamina propria (Stroma) lässt sich durch ein hohes Vorkommen von Zellen und durch faserarmes Bindegewebe (Fibroblasten) charakterisieren [27].

Während des Zyklus lässt sich die Uterusschleimhaut in Abhängigkeit von ovariellen Steroidhormonen in zwei Bereiche unterteilen [27]. Die Funktionalis (Stratum functionale) stellt den Bereich der zyklischen Proliferation dar [27]. Im Laufe des Zyklus wird die Funktionalis periodisch abgebaut. Die Basalis (Stratum Basale) ist zyklusunabhängig und ist für die Neubildung der Schleimhaut zuständig [27]. Die Gefäßversorgung erfolgt hier durch Spiralarterien, die sich vom Myometrium bis in die Funktionalis erstrecken [27].

Zu Beginn des Zyklus kommt es zu einem schnellen Wachstum der Funktionalis unter dem Einfluss eines hohen Östrogenspiegels (Proliferationsphase, 1.-14. Zyklustag) [27]. In der Sekretionsphase (15.-28. Zyklustag) kommt es zu einem ständigen Abfall des Östrogenspiegels und einem starken Anstieg des Progesteronspiegels welcher eine Differenzierung der Funktionalis bewirkt [27]. Am Ende der Sekretionsphase sinkt der vorhandene Progesteronspiegel [27]. Dieser Abfall führt zu Gewebnekrosen und einer Abstoßung der Funktionalis (Menstruationsblutung) [27].

Lymphgefäße besitzen ein größeres Lumen als Blutgefäße [28]. Ebenfalls haben Lymphgefäße ein deutlich dünneres Epithel als Blutgefäße [28]. Der Bereich der Lymphgefäßwand lässt sich durch eine unregelmäßige Kontur charakterisieren [28]. Die Endothelzellen der Lymphgefäße weisen keine durchgängigen Zellverbindungen (Cell junctions) auf [28]. Folglich ist keine Basallamina vorhanden. Diese Lücken sind notwendig, damit Flüssigkeit, Chylomikronen und Proteine aus dem Interstitium ohne Barrierehindernisse in das Lumen der Lymphgefäße gelangen kann [28]. Um das Lumen der Lymphkapillaren zu erhalten, gibt es Verbindungen über Mikrofibrillen, die mit dem umliegenden Bindegewebe verankert sind [28].

Bezüglich des Vorkommen von Lymphgefäßen im Endometrium gibt es bisher keine einheitliche Definition. So zeigen sich in der Funktionalis eines nicht pathologischen Endometriums kleinkalibrige Lymphgefäße, in der Basalis hingegen große Lymphgefäße, welche häufig mit Spiralarterien im Verbund zu finden sind [29].

2.11 Lymphogene Metastasierung

Die lymphogene Metastasierung spielt eine entscheidende Rolle bezogen auf Therapie und Prognose des EC. Eine vorangeschrittene lymphogene/hämatogene Metastasierung ist die Hauptursache für die Mortalität der an Krebs erkrankten Patienten. Die Pathogenese der Metastasierung ist der wichtigste Angriffspunkt zur Entwicklung neuer Therapieoptionen.

So erfolgt die Entwicklung von Lymphgefäßen häufig nach Freisetzung bestimmter Wachstumsfaktoren [30]. Die Lymphangiogenese wird vorwiegend durch Vertreter aus der VEGF-Gruppe (vascular endothelial growth factor) wie VEGF-C und VEGF-D angeregt [30]. Jedoch kann eine Lymphangiogenese auch durch PDGF-BB (Platelet-derived growth factor) ausgelöst werden [31].

Im Verlauf der Erkrankung entwickeln ca. 25 % aller Patientinnen mit einem EC ein Tumorstadium mit einer vorhandenen Metastasierung oder ein Rezidiv [32].

Von den vorgenannten 25% manifestieren sich 17% im vaginalen Bereich, ca. 1/3 im kleinen Becken und der größte Anteil (51%) manifestiert sich als Fernmetastasen (Lunge, Leber) [32][1]. Das Risiko ein Rezidiv zu erleiden ist in den ersten 12-24 Monaten nach einer erfolgten Therapie am höchsten [26][32].

2.12 Ziel der Arbeit

Die vorliegende Arbeit untersucht den Einfluss der peritumoralen Lymphgefäßdichte auf das Tumorstadium und das Outcome des Endometriumkarzinoms. Grundlage der Bestimmung der Lymphgefäßdichte stellen histologische Gewebeschnitte, welche mittels HE-Färbung sowie immunhistochemischer Antikörperfärbung bearbeitet wurden, dar.

Es handelt sich somit um eine klinisch-retrospektive Studie, da bereits behandelte Patientinnen in der Studie ausgewertet wurden. Ziel der Studie ist es zu evaluieren, in wie fern das Outcome von Patientinnen mit der Erkrankung eines EC mit einer hohen vorhandenen Lymphgefäßdichte assoziiert ist.

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Selektion der Fälle

Diese Arbeit analysiert retrospektiv das Outcome bezogen auf verschiedene klinische Stadien von 81 Patientinnen (32 Fälle Frauenklinik Köln, 49 Fälle Frauenklinik Bonn) mit einem EC, welche in der Frauenklinik Köln und Bonn in den Jahren 1995-2014 behandelt wurden. Aus dem Gesamtkollektiv der behandelten Patientinnen wurden zunächst die für die Untersuchung relevanten Fälle identifiziert. Notwendige Kriterien bzw. Voraussetzungen, die zur Aufnahme in diese Arbeit führen, sind ein vorhandenes EC sowie eine stattgehabte Operation (Hysterektomie) mit paraaortaler sowie pelviner Lymphonodektomie. Alle detektierten Fälle wurden in die jeweilige FIGO-Klassifikation (International Federation of Gynecology and Obstetrics) eingeordnet.

3.2 Definition der Tumorregion und der Lymphgefäßdichte

Zunächst wurden die histologischen Präparate mit bestmöglicher Darstellung des Tumors herausgesucht. Voraussetzung für die Aufnahme der Präparate in diese Arbeit war ebenfalls ein klar abzugrenzender Tumorrandbereich. Ebenfalls soll sich neben dem Tumorrandbereich noch nicht infiltrierte Myometrium befinden. Daraufhin wurden die Präparate mittels Immunhistochemie gefärbt und der Bereich zwischen Tumorrand und Myometrium wurde auf die Lymphgefäßdichte untersucht. In niedriger Vergrößerung wurden dann zunächst Regionen mit hoher Lymphgefäßdichte im Tumorrandbereich ausgesucht. Pro Patient wurden jeweils 10 Gesichtsfelder in 400-facher Vergrößerung ausgezählt [33]. Dabei wurden in jedem Gesichtsfeld die vorhandenen angefärbten Lymphgefäße ausgezählt.

Die Lymphgefäßdichte der einzelnen Patientinnen wurde mithilfe des Mittelwert aus der Anzahl der einzelnen Gesichtsfelder errechnet [33]. Anhand aller vorhandenen Ergebnisse der einzelnen Patientinnen wurde dann erneut der Median aller Fälle als Cut off für die Einteilung bezüglich einer niedrigen und einer hohen Lymphgefäßdichte verwendet [33]. Bezogen auf alle 81 Patientenfälle ergibt sich nach Berechnung des Medians der Wert von 1,9 als Cut off.

3.3 Aufarbeitung der histologischen Präparate

Die vorhandenen aus den Paraffinblöcken geschnittenen histologischen Präparate wurden mit dem D2-40 (Podoplanin) Antikörper immunhistochemisch bearbeitet. Bei dem D2-40 Antikörper handelt es sich um einen Antikörper gegen menschliches Podoplanin [34], [35]. Podoplanin ist eine Art Glykoprotein, welches in den Endothelzellen von Lymphgefäßen gebildet wird [34]. Durch diese Antikörperfärbung kann eine spezifische Darstellung des Lymphgefäßendothels erreicht werden [35]. Der D2-40 Antikörper ist von der Firma Covance und läuft auf dem BOND-MAX von Leica in der Verdünnung 1:100 ohne Vorbehandlung.

Bei der Antikörperfärbung mit LYVE-1 (lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor 1) wurden die Paraffinblöcke zunächst bei einem pH-Wert von 9,0 für 30 Minuten in einem Wasserbad (98°) behandelt. Daraufhin erfolgte eine Behandlung mit einer 0,1 %igen Peroxidase (Methanol/H₂O₂) für 15 Minuten bei Raumtemperatur. Im nächsten Schritt wurde dann der Antikörper LYVE-1 der Firma Acris auf das Präparat gegeben und über 15 Minuten bei Raumtemperatur belassen (Protokoll nach schriftlicher Überlieferung durch die Mitarbeiter des CORIC – Cologne Ophthalmological Reading and Image Analysis Center, Experimental Ophthalmology).

3.4 Histologische Darstellung des EC mit Hämatoxylin-Eosin (HE) sowie immunhistochemisch mit D2-40

In diesem Abschnitt sollen verschiedene Färbemethoden dargestellt werden. Abbildung 1 zeigt tumoröse Anteile des EC in 400-facher Vergrößerung in der Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Abbildung 2 zeigt den gleichen Gewebeschnitt wie Abbildung 1. Bei der Abbildung 2 handelt es sich jedoch um eine Antikörperfärbung mit dem Antikörper D2-40. In der Mitte des Bildes sieht man ein braun angefärbtes Lymphgefäß.

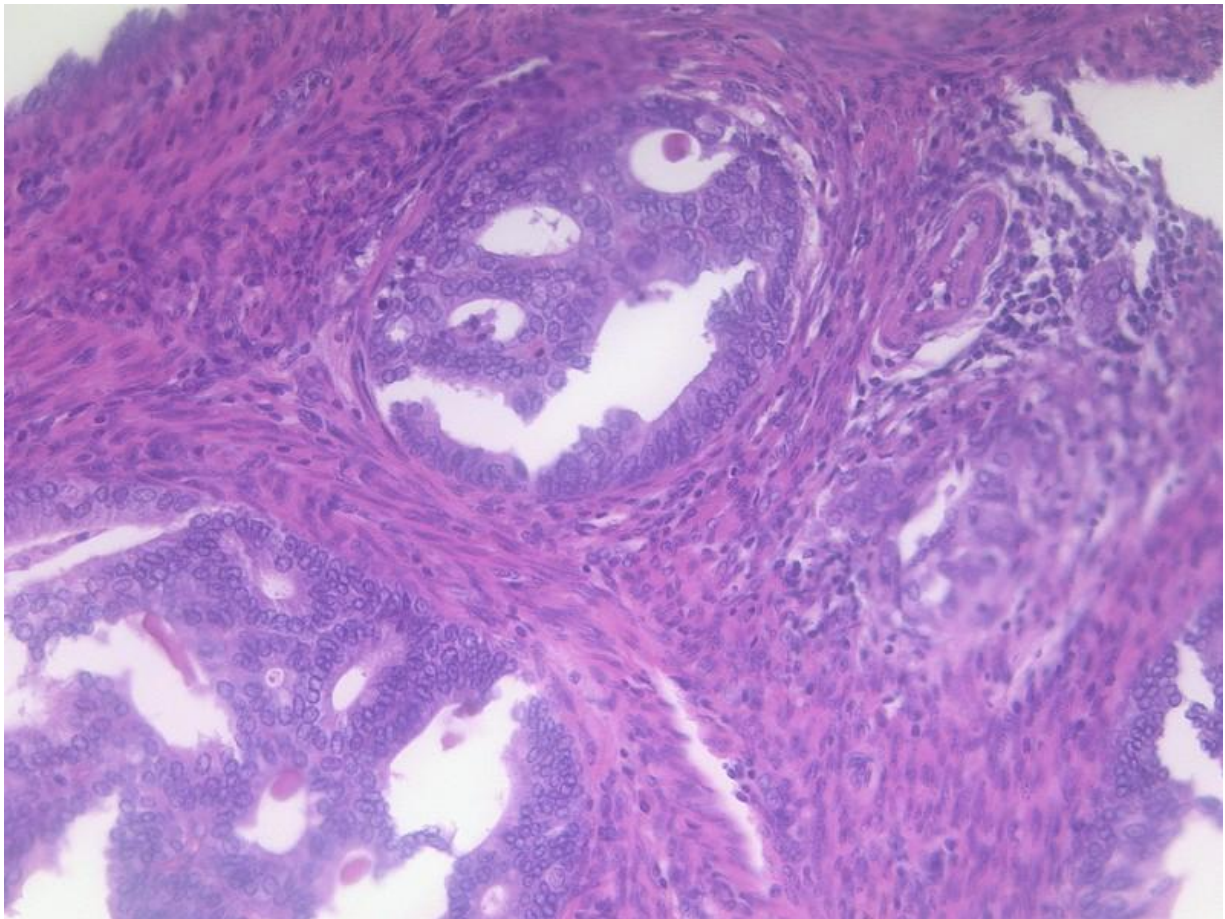


Abbildung 1: HE-Färbung EC

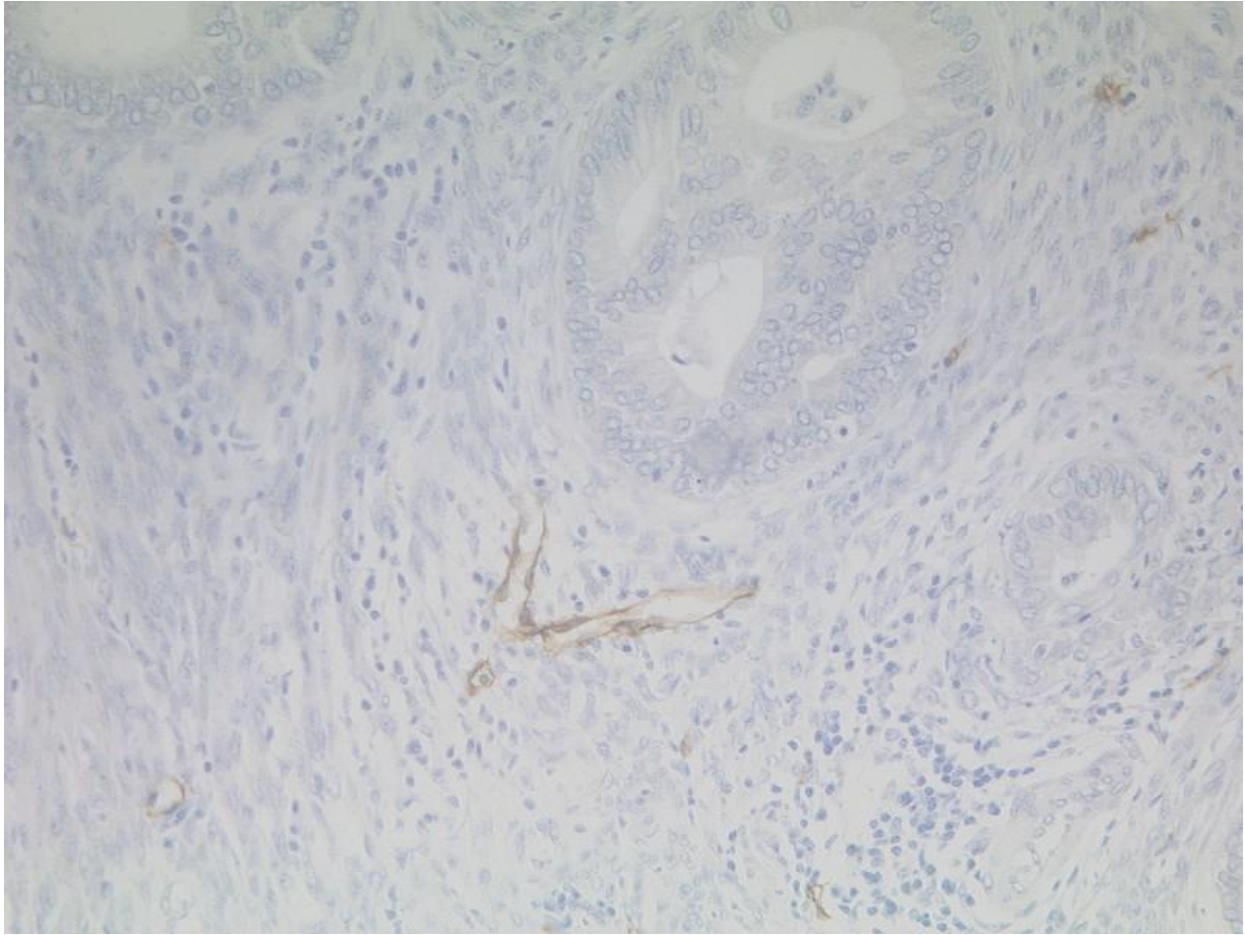


Abbildung 2: Immunhistochemische Färbung mit dem Antikörper D2-40 (Darstellung eines braun angefärbten Lymphgefäß)

Abbildung 3 zeigt wiederum auch in HE-Färbung den Bereich, in dem die Hot-Spots ausgewählt wurden (Bereich zwischen Tumor und nicht infiltriertem Myometrium). In Abbildung 4 ist dieser Hot Spot mit dem D2-40 Antikörper angefärbt. Es zeigen sich eine ganze Reihe von angefärbten Lymphgefäßen, welche dann zur Auswertung ausgezählt wurden.

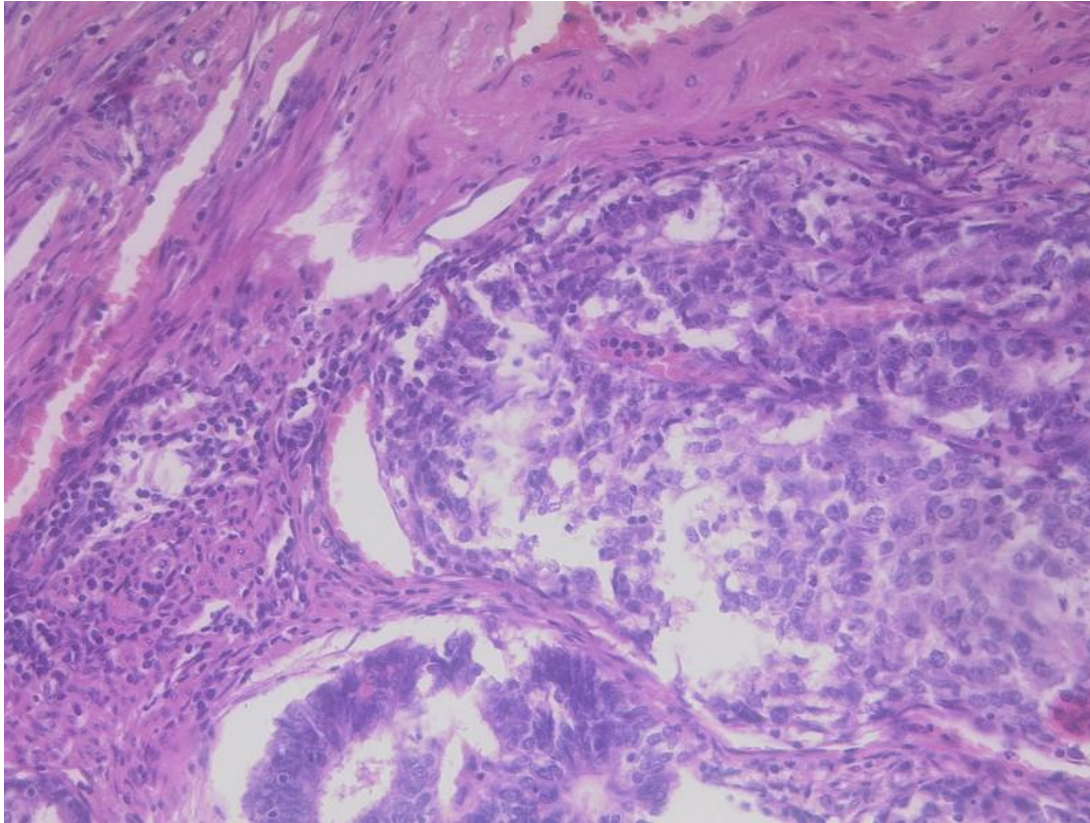


Abbildung 3: HE-Färbung, Darstellung des EC im Tumorrandbereich (Tumor mit angrenzendem nicht infiltriertem Myometrium)

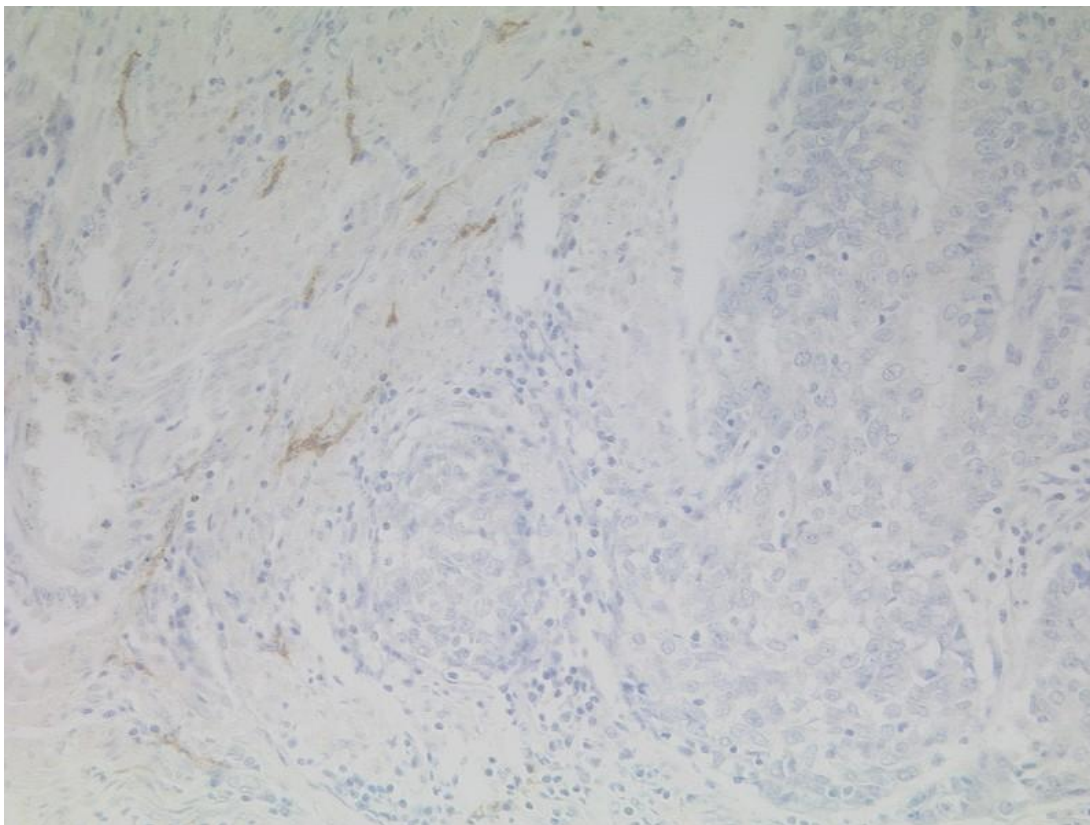


Abbildung 4: Darstellung des Tumorrandbereichs, Immunhistochemische Färbung mit dem Antikörper D2-40

4 ERGEBNIS

4.1 Histopathologische Klassifikation der Fälle

Im Folgenden Abschnitt kommen die Ergebnisse der Studie zur Darstellung. Tabelle 4 zeigt die Verteilung der FIGO-Stadien in unserem Kollektiv. Die Häufigkeitsverteilung des Lymphknotenbefalls geht aus Tabelle 5 hervor. Tabelle 6 zeigt die Anzahl der Patientinnen mit Fernmetastasen.

FIGO-Stadium	Anzahl der Patientinnen	Anzahl in Prozent
I	53	65,4 %
II	15	18,5 %
III	6	7,4 %
IV	5	6,1 %
unbekannt	2	2,6 %
Gesamt	81	100 %

Tabelle 4: Verteilung in der FIGO-Klassifikation

Die Häufigkeitsverteilung des Lymphknotenbefall stellt sich wie folgt dar:

Lymphknotenbefall	Anzahl der Patientinnen	Anzahl in Prozent
ja	11	13,6 %
nein	64	79,0 %
unbekannt	6	7,4 %
Gesamt	81	100 %

Tabelle 5: Verteilung Nodalstatus

Die Verteilung der Gruppe bezogen auf Fernmetastasen zeigt die folgende Darstellung:

Fernmetastasen	Anzahl der Patientinnen	Anzahl in Prozent
ja	6	7,4 %
nein	73	90,1 %
unbekannt	2	2,5 %
Gesamt	81	100 %

Tabelle 6: Verteilung Fernmetastasen

4.2 Outcome der Patientinnen in Abhängigkeit der histopathologischen Befunde

Folgende Assoziationen können sich in unserem Kollektiv berechnen lassen: Das Tumorstadium (nach Histologie) hat einen entscheidenden Einfluss auf die Überlebensprognose der Patientinnen. So steigt gleichzeitig mit einem höheren Tumorstadium auch die Mortalitätsrate ($p < 0,001$, Tabelle 8). Je höher das Tumorstadium, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, dass die Lymphknoten bereits durch den Tumor infiltriert sind ($p < 0,001$, Tabelle 8).

Tabelle 7 zeigt die Verteilung des Lymphknotenbefalls und Ihre Vergesellschaftung mit dem Outcome der Patientinnen.

Lymphknotenbefall	Patientinnen verstorben	Patientinnen leben	unbekannt	P-Wert nach Fisher	Gesamt	lost to follow up
pN1	4	4	3	0,005	11	6
pN0	7	52	5		64	
Gesamt	11	56	8		75	81

Tabelle 7: Lymphknotenbefall bezogen auf Outcome mittels Chi-Quadrat-Test nach Pearson berechnet

Ein Lymphknotenbefall (pN1) ist mit einer signifikant erhöhten ($p=0,005$) Mortalität der Patientinnen assoziiert (Tabelle 7).

Der histologische Typ des EC innerhalb der Kohorte lässt eine Prognose über die Wahrscheinlichkeit von befallenen Lymphknoten zu. So zeigt der histologische Typ der nicht-endometrioiden Tumoren eine höhere Tendenz für einen Lymphknotenbefall ($p=0,027$, Tabelle 8) als endometrioide Tumoren. Bezüglich des Outcome kann kein signifikantes Ergebnis aufgrund der histologischen Tumorentität erzielt werden.

Eine Myometriuminfiltration $>50\%$ geht mit einem höheren Lymphknotenbefall einher ($p=0,015$, Tabelle 8). Bei bereits befallenen Adnexen zeigt sich ebenfalls eine höhere Tendenz zur lymphogenen Metastasierung ($p=0,015$, Tabelle 8).

4.3 Gesamtüberleben bezogen auf die FIGO-Klassifikation

Abbildung 5 zeigt das Gesamtüberleben der Patientinnen in den einzelnen Tumorstadien der FIGO-Klassifikation.

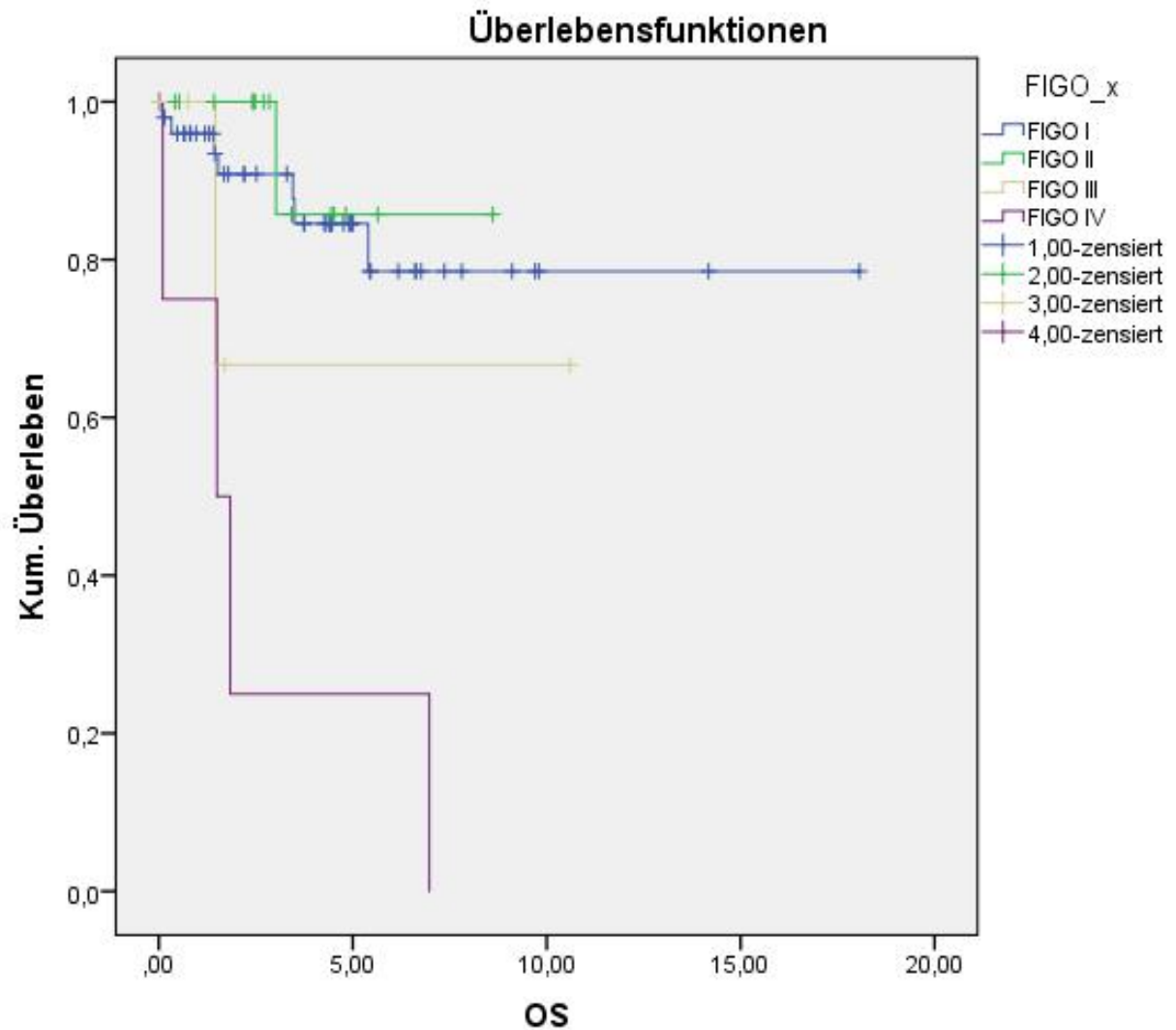


Abbildung 5: Überleben der Patientinnen in den einzelnen Tumorstadien nach FIGO

Im Tumorstadium FIGO I leben bis zum Zeitpunkt der Analyse noch 41 Patientinnen, 7 sind bereits verstorben (Tabelle 8). Im Stadium FIGO II gibt es 14 überlebende und 1 verstorbene Patientin (Tabelle 8). Stadium III beinhaltet eine verstorbene Patientin und 2 überlebende (Tabelle 8). Im FIGO Stadium IV sind alle Patientinnen bereits verstorben (Tabelle 8).

Es lässt sich also ein eindeutiger Zusammenhang zwischen Tumorstadium und Überleben herstellen. Mit steigendem Tumorstadium steigt die Mortalität der Patientinnen. Eine generell schlechtere Lebenserwartung weisen Patientinnen mit Peritonealmetastasen auf ($p < 0,001$, Tabelle 8), So geht eine bereits peritoneal erfolgte Metastasierung mit einem signifikant erhöhtem Lymphknotenbefall einher ($p < 0,001$, Tabelle 8), was zusätzlich die erhöhte Mortalität unterstreicht.

4.4 Outcome in Abhängigkeit von hoher und niedriger Lymphgefäßdichte

Die Berechnung der Lymphgefäßdichte erfolgt durch die Bildung des Mittelwertes aller 10 Gesichtsfelder. Nach den Berechnungen ergibt sich eine Lymphgefäßdichte mit einer Range von 0,4 bis 4,6.

Der Median der Lymphgefäßdichte aller Fälle errechnet sich mit 1,9 und stellt den Cut off für eine niedrige ($<1,9$) und eine hohe Lymphgefäßdichte ($> 1,9$) dar. Die Kohorte lässt sich wie folgt aufteilen: 44 (54,3%) Patientinnen zeigen eine niedrige Lymphgefäßdichte und 37 (45,7%) Patientinnen eine hohe Lymphgefäßdichte.

Eine hohe Anzahl an Lymphgefäßen ist mit einem signifikant besseren Outcome (Patientin lebt/Patientin verstorben) der Patientinnen assoziiert ($p= 0,019$, Tabelle 8). Ebenfalls kann gezeigt werden, dass Patientinnen mit einer hohen Lymphgefäßdichte eine geringere peritoneale Metastasierung aufweisen ($p=0,035$, Tabelle 8). Patientinnen im Alter von 30-69 Jahren zeigen signifikant häufiger ($p=0,015$) eine hohe Lymphgefäßdichte (23/37, 62,2%) im Vergleich zu Patientinnen, welche das 70. Lebensjahr bereits vollendet haben (14/37, 37,8%, Tabelle 9). Folglich haben Patientinnen im Alter ≥ 70 Jahre häufiger eine niedrige Lymphgefäßdichte (29/44, 65,9%). Zusätzlich lässt sich also auch ein schlechteres Outcome bei Patientinnen ≥ 70 Jahre eruieren. Bezüglich einer hohen Lymphgefäßdichte und einem niedrigeren Tumorstadium kann kein signifikanter Zusammenhang hergestellt werden (Tabelle 9). Ebenfalls kann keine Tendenz zu einem höheren Lymphknotenbefall aufgrund einer niedrigeren Lymphgefäßdichte eruiert werden (Tabelle 8). Des Weiteren kann eine hohe Lymphgefäßdichte nicht mit einer geringeren Myometriuminfiltration in Verbindung gebracht werden (Tabelle 9).

Tabelle 8 vergleicht und überprüft verschiedene Variablen auf Ihren Zusammenhang mit dem Lymphknotenstatus sowie dem Outcome der Patientinnen:

Variable	Kategorie	Lymphknoten -status		p ¹	Outcome		p ¹
		positiv	negativ		verstorben	leben	
Alter	30-69 Jahre	8	31	0,136	6	29	0,968
	>=70 Jahre	3	33		7	29	
histolog. Typ	Endometri oid	8	60	0,027	11	54	0,608
	nicht- Endometri oid	3	4		2	4	
FIGO- Stadium	I	5	47	<0,001	7	41	< 0,001
	II	1	14		1	14	
	III	3	1		1	2	
	IV	2	0		2	0	
LG-Dichte	niedrig	4	34	0,304	11	26	0,019
	hoch	7	30		2	32	
Myometr. Infiltration	< 50%	1	33	0,015	2	27	0,118
	> 50 %	10	31		11	31	
Zervikale Infiltration	Ja	1	13	0,378	1	13	0,136
	nein	10	51		12	45	
befallene Adnexe	ja	1	0	0,015	1	0	0,244
	nein	10	64		13	57	

befallenes Peritoneum	ja	4	1	<0,001	5	1	<0,001
	nein	7	63		8	57	

Tabelle 8: Baselinetabelle, p1-Werte mittels Chi-Quadrat-Test nach Pearson berechnet (in Anlehnung an [33]).

Tabelle 9 zeigt den Einfluss der Lymphgefäßdichte auf verschiedenste Variablen:

Variable	Kategorie	Lymphgefäßdichte		p1
		niedrig	hoch	
Alter	30-69 Jahre	15	23	0,015
	>=70 Jahre	29	14	
histologischer Typ	Endometrioid	40	34	1,00
	nicht-Endometrioid	4	3	
FIGO-Stadium	I	27	27	0,736
	II	7	8	
	III	4	2	
	IV	5	0	
Myometriuminfiltration	< 50%	1	32	0,407
	> 50 %	0	48	
Zervikale Infiltration	ja	7	7	0,774
	nein	37	30	
befallene Adnexe	ja	1	1	1,0
	nein	43	36	
befallenes Peritoneum	ja	8	1	0,035
	nein	36	36	

Tabelle 9: Baselinetabelle Lymphknotendichte p1 Werte mittels Chi-Quadrat-Test nach Pearson berechnet (in Anlehnung an [33]).

Abbildung 6 zeigt das rezidivfreie Überleben der Patientinnen anhand Ihres Lymphgefäßstatus (hohe oder niedrige Dichte). 43 Patientinnen weisen eine niedrige Lymphgefäßdichte und 37 Patientinnen weisen eine hohe Lymphgefäßdichte auf. Die Analyse des Überleben ist mittels Berechnung der 5-Jahres-Überlebensrate erfolgt. Das 5 Jahres-Überleben ist mit 60,3% +/- 8,8% (Standardabweichung) bei Patientinnen mit niedriger Lymphgefäßdichte niedriger als bei Patientinnen mit einer hohen Lymphgefäßdichte (87,6% +/- 6,8%).

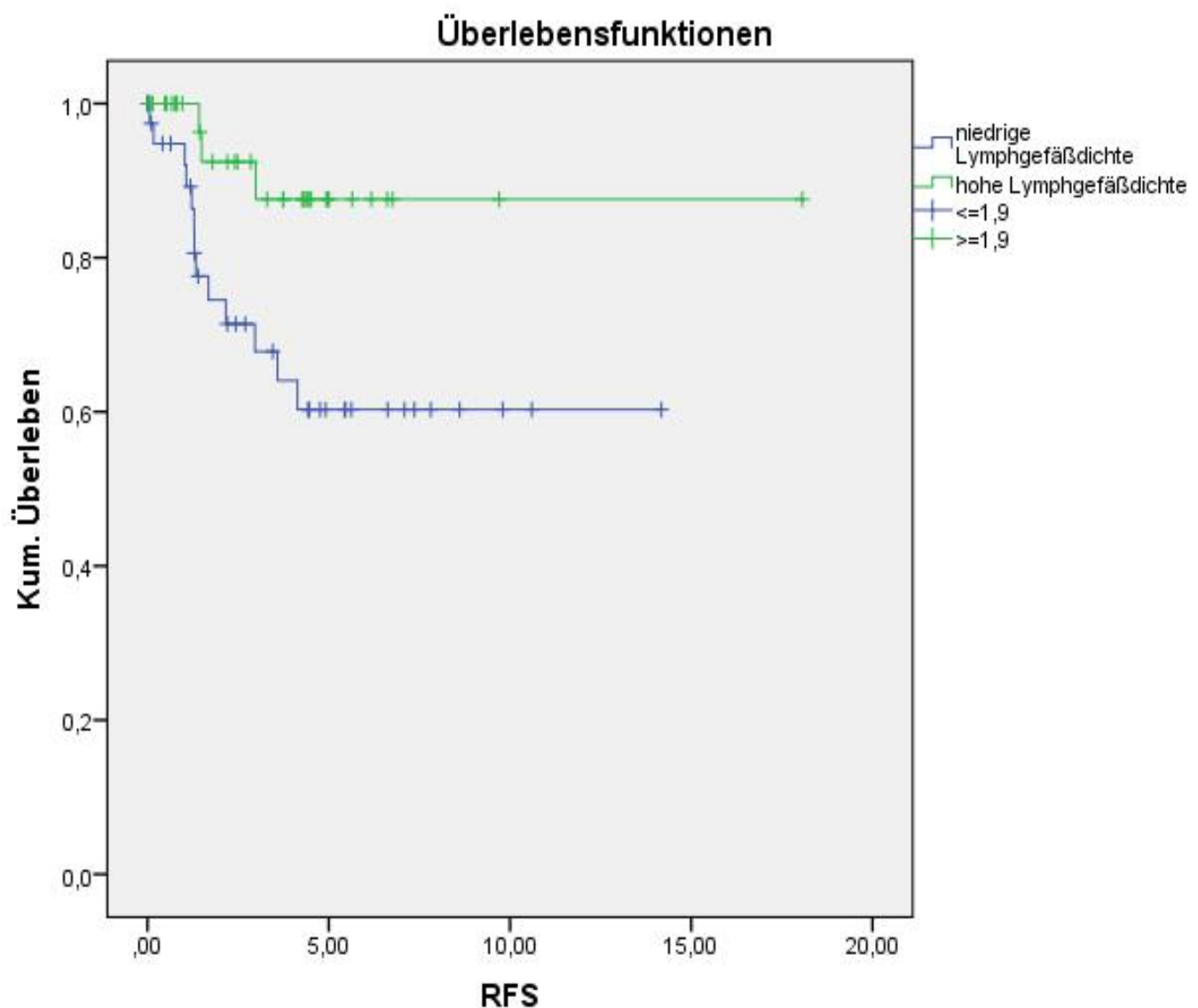


Abbildung 6: Rezidivfreies Überleben anhand hoher und niedriger Lymphgefäßdichte

5 DISKUSSION

5.1 Motivation für die Fragestellung und wichtige Ergebnisse

Die vorliegende Arbeit stellt die Lymphgefäßdichte des Endometriumkarzinoms in Relation zum Gesamtüberleben der ausgewählten Kohorte (81 Patientinnen) dar. Die Motivation zum Beginn der Arbeit ist in Anlehnung an die bereits abgeschlossene Studie „Association between intratumoral lymphatic microvessel density (LMVD) and clinicopathologic features in endometrial cancer: a retrospective cohort study“ [33] entstanden.

Charakteristika dieser Studie sind eine Auswahl an Gewebeschnitten eines EC mit D2-40 Antikörperfärbung (keine LYVE-1-Färbung). Hier sind lediglich die Präparate von 54 Patientinnen auf die Lymphgefäßdichte untersucht worden. Im Unterschied zu unserer Studie wurden auch Patientinnen ohne stattgehabte pelvine und paraaortale Lymphonodektomie in die Statistik mit einbezogen.

In unserer Studie soll ebenfalls untersucht werden, ob es sich bei der Lymphgefäßdichte um einen prognostischen Marker handelt. Nach ersten Datenanalysen und nach Auswertung der Einschlusskriterien (stattgehabte Operation mit Hysterektomie, pelviner und paraaortaler Lymphonodektomie) gab es zunächst nur eine geringe Fallzahl, welche nicht zufriedenstellend war. Dies ist sicherlich auch auf eine geringere Erkrankungsinzidenz gegenüber anderen Tumorentitäten zu erklären. Ziel ist es jedoch gewesen, so viele Patientinnen wie möglich in unsere Studie einzubeziehen. Infolgedessen entstand eine Kooperation mit der Uniklinik in Bonn, sodass abschließend eine Fallzahl von 81 erreicht werden kann. In der bereits vorhandenen Studie erfolgte die Analyse mit 54 Patientinnen.

Die wichtigste Kernaussage, die nach Auswertung der 81 Patientenfälle getroffen werden kann ist ein signifikanter Unterschied bezogen auf das Überleben im Gesamtkollektiv. So zeigen Patientinnen mit einer hohen Lymphgefäßdichte ein signifikant besseres Überleben ($p=0,019$) als Patientinnen mit einer niedrigen Lymphgefäßdichte.

Ein ebenfalls interessanter Ansatz ist der signifikante Unterschied der Lymphgefäßdichte bezogen auf die Altersverteilung. Junge Patientinnen zeigen mehrheitlich eine hohe Lymphgefäßdichte, ältere Patientinnen (>70 Jahre) weisen häufiger eine niedrige Lymphgefäßdichte auf ($p=0,015$). Abschließend lässt sich also sagen, dass eine Erkrankung im hohen Alter mit einem schlechteren Gesamtüberleben vergesellschaftet ist.

Ein weiteres Ergebnis bezieht sich auf das FIGO-Stadium der vorhandenen Erkrankung. Hier ist mit fortschreitendem FIGO-Stadium ein schlechteres Outcome der Patientinnen zu verzeichnen ($p<0,001$).

Zusätzlich kann gezeigt werden, dass eine hohe Lymphgefäßdichte mit einem geringeren Peritonealbefall einhergeht ($p<0,035$) und der Peritonealbefall wiederum mit einem prognostisch ungünstigen Gesamtüberleben der Patientinnen vergesellschaftet ist ($p<0,001$).

Keine Korrelation ergibt sich mit dem FIGO-Stadium, dem Befall der Adnexe, der zervikalen oder myometranen Infiltration oder dem histologischen Subtyp.

5.2 Analyse der Ergebnisse und selbstkritische Reflexion

Die Hypothese, dass eine größere Lymphgefäßdichte mit einem besseren Outcome der Patientinnen einhergeht (Tabelle 8, P-Wert: 0,019), bestätigt sich erwartungsgemäß in Anlehnung an „Association between intratumoral lymphatic microvessel density (LMVD) and clinicopathologic features in endometrial cancer: a retrospective cohort study“ [33]. Die aufgestellte Hypothese kann zunächst als paradox erachtet werden, da eine höhere Lymphgefäßdichte potenziell auch mit einem erhöhten Risiko für eine

lymphogene Metastasierung einhergehen kann. Jedoch lässt sich kein Korrelat bezüglich der Lymphgefäßdichte und einem vorhandenen Lymphknotenbefall eruieren (Tabelle 8, P-Wert: 0,304). Eine mögliche Erklärung ist in diesem Zusammenhang ein individuell stärkeres Immunsystem, welches eine Metastasierung weniger wahrscheinlich macht. Zusätzlich ist festzuhalten, dass in der Studie mit einer sehr ähnlichen Fragestellung bei einer Kohorte von 54 Patientinnen ebenfalls keine erhöhte Lymphknotenmetastasierung bei erhöhter Lymphgefäßdichte zu verzeichnen ist [33].

Bezüglich des Materials und der Methoden ist die Färbung der Lymphgefäße mit den Antikörpern kritisch zu betrachten. So lässt sich der Lymphgefäßstatus des Endometriums lediglich mit dem D2-40 Antikörper darstellen. Des Weiteren ist eine Färbung mit dem Antikörper LYVE-1 (lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor 1) durchgeführt worden. In diesen histologischen Schnitten ist entgegen unseren Erwartungen jedoch keine Färbung der Lymphgefäße zu verzeichnen. Betrachtet man hingegen die Studie "Clinical significance of lymphatic vessel density in determining the length of distal resection in rectal cancer" [36], lässt sich eine Anfärbung der Lymphgefäße verzeichnen. In dieser Studie ist die immunhistochemische Färbung jedoch mit Gewebe des Rektums durchgeführt worden. Eine mögliche Erklärung hierfür ist die Verwendung von unterschiedlichem Gewebe (Rektum und Endometrium). Des weiteren stellt sich die Frage, ob mit dem D2-40 Antikörper auch wirklich alle Lymphgefäße im Tumorrandbereich angefärbt wurden. Jedoch lässt sich auch hier ebenfalls wieder die Studie von Kawamura [33] anführen, bei der ebenfalls der D2-40 Antikörper verwendet wurde.

Es fällt auf, dass sich unter steigendem Alter der Patientinnen (≥ 70 Jahre) ein signifikant höherer Anteil von Frauen mit niedriger Lymphgefäßdichte verzeichnen lässt (P-Wert: 0,015, Tabelle 9). Dieses kann die Hypothese unterstreichen, dass eine Erkrankung von

älteren Frauen mit einer schlechteren Prognose einhergeht. Eine andere mögliche Erklärung ist hingegen, dass ältere Frauen häufiger an einem EC erkranken [1].

Eine weitere Schlussfolgerung ist ein steigendes Risiko für Lymphknotenbefall mit fortgeschrittenem Tumorstadium (P-Wert: $< 0,001$). Dieses kann die allgemeine Tumorentstehungs- und invasionstheorie mit der dazugehörigen Tumorklassifikation unterstreichen [10]. Erwartungsgemäß steigt in der vorhandenen Kohorte die Mortalitätsrate mit steigendem Tumorstadium. In der ähnlich angelegten Studie lässt sich keine signifikant erhöhte Mortalität in höheren FIGO-Stadien feststellen. Möglicherweise kann dies auf Unterschiede im Therapieregime zurückzuführen sein.

Diese Hypothesen erscheinen als logisch, wenn man davon ausgeht, dass mit steigendem Tumorstadium mehr umliegendes Gewebe sowie auch mehr Lymphknotenstationen infiltriert werden. Diese Aussagen lassen sich durch andere Studien sowie auch in der Studie „Association between intratumoral lymphatic microvessel density (LMVD) and clinicopathologic features in endometrial cancer: a retrospective cohort study“ [33] bestätigen.

Die histologischen Tumorentitäten stellen sich verglichen mit einer ähnlichen Studie annähernd gleich dar. So ist der größte Teil der Kohorte beider Studien an einem endometrioiden Endometriumkarzinom erkrankt [33]. Dieses entspricht auch den aktuellen histologischen Häufigkeitsverteilungen des Endometriumkarzinoms [1]. Eine Studie mit einer sehr ähnlichen Fragestellung kommt zu dem Schluss, dass der histologische Typ eines endometrioiden Endometriumkarzinoms mit einem

besseren Outcome vergesellschaftet ist, als jene eines nicht endometrioiden Differenzierungstyps.

Die Auswertung dieser Studie beinhaltet im Vergleich zu unserer Studie jedoch lediglich 54 Patientenfälle [33]. In unserer Studie kann ein besseres Outcome der endometrioiden Endometriumkarzinome nicht bestätigt werden ($p=0,608$).

Eine mögliche Erklärung für diese unterschiedlichen Ergebnisse kann durch einen kontinentalen Unterschied oder ein Zufallsergebnis erklärt werden (Sao Paulo, Brasilien vs. Köln und Bonn, Deutschland).

Jedoch lässt sich ein signifikantes Ergebnis des Lymphknotenstatus bezogen auf den histologischen Typ eruieren. Patientinnen mit endometrioiden Endometriumkarzinomen weisen einen signifikant geringeren Lymphknotenbefall auf ($p=0,027$). Dieses Ergebnis kann in einer ähnlichen Studie nicht bestätigt werden [33].

Eine Myometriuminfiltration von über 50 % geht laut den erhobenen Daten mit einem erhöhten Risiko für einen Lymphknotenbefall einher (Tabelle 8, P-Wert: 0,015). Auch dieses Ergebnis lässt sich durch den höheren Lymphknotenbefall durch ein steigendes Tumorstadium unterstreichen, denn die Infiltrationstiefe des Myometriums steigt mit fortschreitendem Tumorstadium [10]. Ebenfalls kommt eine andere Studie zu dem gleichen signifikanten Ergebnis [33].

Des weiteren steigt mit zunehmendem Tumorstadium das Risiko eine Peritonealkarzinose zu entwickeln [10]. Patientinnen mit einer niedrigen Lymphgefäßdichte zeigen häufiger einen peritonealen Befall als Patientinnen mit einer hohen Lymphgefäßdichte (Tabelle 9, P-Wert: 0,035). Eine mögliche Erklärung für diese Hypothese ist, dass die Lymphgefäßdichte eine höhere prognostische Voraussage zulässt, als der Lymphknotenbefall. In einer ähnlich angelegten Studie zeigen Patientinnen mit peritonealem Befall einen signifikant höheren Anteil eines positiven

Lymphknotenstatus [33]. Erwartungsgemäß kann diese Hypothese in unserer Studie ebenfalls bestätigt werden ($p < 0,001$). Die Hypothese, dass mit steigendem Tumorstadium auch die Mortalitätsrate steigt, kann durch den Nachweis einer erhöhten Mortalität bei vorhandener Peritonealkarzinose bestätigt werden ($p < 0,001$).

5.3 Weitere prognostische Faktoren des EC und allgemeiner Tumorentitäten

Im Fokus weiterer prognostischer Faktoren bezüglich des EC steht aktuell auch der Biomarker HE4 im Serum zur Diskussion [37]. So korreliert die Konzentration von HE4 im Serum bei Patientinnen mit diagnostiziertem EC mit dem Stadium des EC, dem Befall des Endometriums sowie dem Befall der Lymphgefäße [37]. In der vorbeschriebenen Studie ist der Biomarker HE4 bei 88 Patientinnen vor chirurgischer Therapie im Serum bestimmt worden [37]. Im Ergebnis zeigen die Patientinnen mit einer normalen Konzentration von HE4 im Serum ein signifikant längeres Intervall von Rezidivfreiheit sowie ein längeres Gesamtüberleben als Patientinnen mit einer erhöhten Konzentration von HE4 im Serum [37]. Somit kann die HE4-Konzentration im Serum in dieser Studie als unabhängiger prognostischer Faktor bezüglich des EC charakterisiert werden [37].

Neopterin stellt einen weiteren diagnostischen sowie prognostischen Faktor des EC dar [38]. In der beschriebenen Studie wurde eine Assoziation und Korrelation zwischen der Konzentration von Neopterin im Serum und im Urin überprüft [38]. Zunächst ist bei einer erhöhten Konzentration von Neopterin im Serum und Urin von einer erhöhten Aktivität von Makrophagen durch Interferon-gamma auszugehen [38]. Ursache dieser erhöhten Makrophagenaktivität sind Erkrankungen wie virale Infekte, eine Abstoßungsreaktion nach Transplantation oder

Autoimmunerkrankungen [38]. Eine erhöhte Makrophagenaktivität kann ebenfalls aufgrund verschiedenster maligner Tumorentitäten nachgewiesen werden [38]. Erhöhte Neopterin-Konzentrationen in Urin, Aszites, Serum oder im Liquor cerebrospinalis sind mit einer ungünstigen Prognose vergesellschaftet [38]. Beim EC kommt es zu einem Nachweis von hohen Neopterin-Konzentrationen im Urin [38]. Die unterschiedlichen Stadien der Neopterinkonzentrationserhöhung im Urin korrelieren mit dem vorhandenen Tumorstadium des EC [38]. Im Serum kann keine Korrelation zwischen Neopterinkonzentration und Tumorstadium des EC eruiert werden [38]. Folglich kann dem Neopterin eine Stellung als prognostischer Faktor bezüglich des EC zugeschrieben werden.

Ein weiterer Biomarker, welcher eine Rolle in der Tumorgenese des EC und auch anderer Tumorentitäten spielt ist das SerpinE2 [39]. In einer aktuellen Studie ist eine Überexpression von SerpinE2 in Tumorzellen des EC nachgewiesen worden [39]. Als Folge dieser Überexpression ist eine Korrelation zwischen Überexpression und schlechter Prognose zu verzeichnen [39]. Ebenfalls kann der Biomarker SerpinE2 durch spezifische siRNA's ausgeschaltet werden, was zu einer Veränderung der Mobilität und Überlebensfähigkeit der Tumorzellen des EC führt.

Eine weitere Studie assoziiert ein erhöhtes Risiko der Entartung einer Endometriumhyperplasie mit dem Anstieg des EMP2 (Epithelial membrane protein-2 expression) [40]. Ein Anstieg des EMP2 gilt folglich als früher Prädiktor für die Entstehung von Endometriumkarzinomen [40]. Eine Mutation im EMP2 und eine dadurch erhöhte Expression geht zusätzlich mit einer schlechten Prognose des EC einher [41]. Es kann gezeigt werden, dass Tumoren mit EMP2-Expression ein signifikant höheres invasives Wachstum (in das Myometrium) zeigen [41]. Ebenfalls kann bei Tumoren mit EMP2-Expression ein signifikant höheres Tumorstadium eruiert werden [41]. Aktuell befassen sich Studien mit den komplexen

Signalwegen der epithelialen Membranproteine und es geht darum, z.B. das EMP2 als mögliches Zielobjekt für eine medikamentöse Therapiestrategie zu untersuchen [42].

Eine weitere Studie untersucht die prognostische Aussagekraft des Parameters der D-Dimere bei Patientinnen mit EC unter Radiatio [43]. Die D-Dimere sind hier vor und nach Radiatio bei 40 Patientinnen mit einem EC bestimmt worden [43]. Patientinnen mit niedrigen Werten (D-Dimere) vor Radiatio zeigen ein signifikant längeres Gesamtüberleben (OS) sowie einen längeren Zeitraum ohne Rezidiv (RFS) [43]. Patientinnen mit deutlich erhöhten D-Dimeren vor Radiatio zeigen folglich ein signifikant geringeres OS und RFS.

Eine andere Arbeit untersucht den Einfluss des inflammatorischen Systems auf das postoperative Outcome von Patientinnen mit einem EC [44]. Die Kohorte dieser Studie umfasst 185 Patientinnen mit einem EC, welche bereits chirurgisch therapiert wurde [44]. Als prognostischer Marker ist das Verhältnis von Neutrophilen Granulozyten zu Lymphozyten untersucht worden [44]. Nach Bestimmung der Marker (prä- sowie postoperativ) konnte bei vorliegenden erhöhten Verhältnissen zwischen Neutrophilen und Lymphozyten eine geringere Zeit für eine Rezidivfreiheit bezogen auf den Tumor eruiert werden [44]. Ebenfalls gehen erhöhte Werte (prä- und postoperativ) zugunsten der Neutrophilen Granulozyten mit einem höheren Tumorstadium einher [44]. Lediglich präoperativ erhöhte Werte gehen mit einem erhöhten Lymphknotenbefall bei den Patientinnen einher [44]. Abschließend zusammengefasst kann das inflammatorische System als prognostischer Marker für das EC herangezogen werden.

Eine generelle Rolle in der Tumorangio-genese diverser Karzinomentitäten spielt das TET-Protein (Ten-eleven translocation protein) [45]. Die TET-Proteine haben Ihre Funktion in der DNA-Demethylierung . In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die Expression der mRNA für TET-Proteine in Krebszellen wesentlich geringer ist als in physiologisch agierenden Zellen [45]. Ebenfalls ist eine sinkende TET-Expression mit einem steigendem Tumorstadium vergesellschaftet [45]. Zusätzlich wurde das Gesamtüberleben von 66 Patientinnen mit EC analysiert [45]. Hier zeigt sich bei einer geringen TET-Expression eine signifikant geringere Gesamtüberlebenszeit [45]. Eine hohe TET-Expression hingegen ist mit einem längeren Gesamtüberleben assoziiert [45]. Folglich kann die Höhe des TET-Proteins ebenfalls als unabhängiger prognostischer Marker bezogen auf das EC charakterisiert werden [45].

5.4 Ausblick und Limitationen

Bezüglich des Materials und der Methoden lässt sich festhalten, dass die D2-40 Antikörperfärbung eine gute Darstellung der Lymphgefäße des EC sowie anderer Tumorentitäten erlaubt. Dies zeigt sich sowohl in den Präparaten dieser Arbeit sowie auch einer ähnlichen Arbeit [33]. Des weiteren lassen sich mit dem D2-40 Antikörper ebenfalls die Lymphgefäße anderer Tumorentitäten darstellen. So gibt es eine aktuelle Studie in der die Lymphgefäße auch in hepatozellulären Carcinomen mit dem D2-40 Antikörper dargestellt werden können [46]. Eine weitere Studie zeigt eine Lymphgefäßdarstellung mittels D2-40 in ösophagealen Karzinomen [47]. Ebenfalls erfolgt mit dem Antikörper D2-40 eine Lymphgefäßdarstellung in Mamma-Karzinomen [48], [49]. Zusätzlich wird die immunhistochemische D2-40 Antikörperfärbung zur Eruierung einer Lymphgefäßinvasion bei Mamma-Karzinomen verwendet [49].

Der Nachweis einer Lymphgefäßinvasion durch den Tumor oder auch keiner Tumorinvasion in die Lymphgefäße stellt eine entscheidende Säule im Bezug auf eine brusterhaltende Therapie mit Radiatio dar [49].

Bezüglich der LYVE-1 Antikörperfärbung gilt es herauszufinden, warum sich die Lymphgefäße im Gewebe des Magen-Darm-Trakts anfärben lassen und im Endometrium nicht. Diese Thematik lässt sich sicherlich in einer wissenschaftlichen Arbeit vertiefen. Eine Hypothese kann sein, dass sich im Magen-Darm-Trakt mehr Hyaluronan-Rezeptoren befinden (lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor 1). Eine weitere Hypothese ist, dass die Struktur der Lymphgefäße sich in den unterschiedlichen Organen unterscheidet.

Aktuell befasst die Forschung sich ebenfalls mit Zielmolekülen in der Tumorgenese. So kommt eine aktuelle Studie zu dem Schluss, dass es in Tumorzellen des EC im Vergleich zu physiologischen Zellen zu einer Überexpression der Histonmethyltransferase EZH2 kommt [50]. Im Anschluss an dieses Ergebnis kann ein vermindertes Tumorzellwachstum sowie eine Tumorzellapoptose durch die Zugabe von spezifischen siRNA's (GSK126 = spezifischer EZH2 Inhibitor) erreicht werden [50]. Aktuell gilt es zu klären, ob diese spezifischen siRNA's einen therapeutischen Effekt haben können [50].

6 ZUSAMMENFASSUNG

Das EC gewinnt aufgrund einer bereits frühen Diagnosestellung und einer damit steigenden Krankheitsinzidenz in den industrialisierten Staaten deutlich an Bedeutung. So ist das EC der zweithäufigste gynäkologische Tumor nach dem Mammakarzinom [2]. Um die Pathogenese des EC besser verstehen zu können ist das Ziel der durchgeführten Analysen, einen prognostischen Faktor auszumachen, welcher eine Aussage über das Outcome der betroffenen Patientinnen erlaubt.

Diesbezüglich wurden die histologischen Gewebeschnitte von 81 Patientinnen, welche im Zeitraum von 1995-2014 an einem EC erkrankt waren mit dem Antikörper D2-40 gefärbt. Durch diese Färbung kann eine spezifische Darstellung der Lymphgefäße im Tumorrandbereich erzielt werden. Voraussetzung für die Aufnahme einer Patientin in die Analyse ist eine bereits stattgehabte Operation mit Hysterektomie sowie pelviner und paraaortaler Lymphonodektomie.

Bezüglich der ausgewählten Kohorte lässt sich die Aussage treffen, dass die peritumorale Lymphgefäßdichte ein prognostischer Faktor bezogen auf das Outcome der an einem EC erkrankten Patientinnen ist. Der Parameter Überleben im Gesamtkollektiv zeigt einen signifikanten Unterschied für Fälle mit niedriger gegenüber hoher Lymphgefäßdichte: Patientinnen mit einer hohen Lymphgefäßdichte zeigen ein signifikant besseres Überleben ($p=0,019$). Außerdem zeigt sich ein signifikanter Unterschied der Lymphgefäßdichte zwischen jungen (<70 J) und alten Patientinnen (>70 J): die jungen Patientinnen zeigen mehrheitlich eine hohe Lymphgefäßdichte, die alten Patientinnen eine niedrige ($p=0,015$). Ebenfalls hoch signifikant mit dem Outcome assoziiert zeigt sich in unserem Kollektiv das FIGO-Stadium und der Befall des Peritoneums ($p < 0,001$).

Keine Korrelation ergibt sich mit dem FIGO-Stadium, dem Befall der Adnexe, der zervikalen oder myometranen Infiltration oder dem histologischen Subtyp.

Die bereits erörterten Ergebnisse bedürfen einer kritischen Prüfung, da Störfaktoren nicht gänzlich eliminiert werden können.

7 LITERATURVERZEICHNIS

1. Amant F, Moerman P, Neven P, Timmerman D, Van Limbergen E, Vergote I. Endometrial cancer. *The Lancet*. 2005 Aug 12;366(9484):491–505.
2. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 2011 Apr;61(2):69–90.
3. Kimura T, Kamiura S, Yamamoto T, Seino-Noda H, Ohira H, Saji F. Abnormal uterine bleeding and prognosis of endometrial cancer. *Int J Gynecol Obstet*. 2004 Mai;85(2):145–50.
4. Waldmann A, Eisemann N, Katalinic A. Epidemiology of Malignant Cervical, Corpus Uteri and Ovarian Tumours - Current Data and Epidemiological Trends. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 2013 Feb;73(2):123–9.
5. Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*. 1983 Feb;15(1):10–7.
6. Doll A, Abal M, Rigau M, Monge M, Gonzalez M, Demajo S, Colás E, Llauredó M, Alazzouzi H, Planagumá J, Lohmann MA, Garcia J, Castellvi S, Cajal JR y, Gil-Moreno A, Xercavins J, Alameda F, Reventós J. Novel molecular profiles of endometrial cancer—new light through old windows. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2008 Feb;108(3–5):221–9.
7. Fukuchi T, Sakamoto M, Tsuda H, Maruyama K, Nozawa S, Hirohashi S. Beta-catenin mutation in carcinoma of the uterine endometrium. *Cancer Res*. 1998 Aug 15;58(16):3526–8.
8. Lukes AS, Kohler MF, Pieper CF, Kerns BJ, Bentley R, Rodriguez GC, Soper JT, Clarke-Pearson DL, Bast RC, Berchuck A. Multivariable analysis of DNA ploidy, p53, and HER-2/neu as prognostic factors in endometrial cancer. *Cancer*. 1994 May 1;73(9):2380–5.
9. Chiang S, Soslow RA. Updates in diagnostic immunohistochemistry in endometrial carcinoma. *Semin Diagn Pathol*. 2014 May;31(3):205–15.
10. Horn L-C, Schierle K, Schmidt D, Ulrich U, Liebmann A, Wittekind C. [Current TNM/FIGO classification for cervical and endometrial cancer as well as malignant mixed müllerian tumors. Facts and background]. *Pathol*. 2011 May;32(3):239–43.
11. Trapido EJ. A prospective cohort study of oral contraceptives and cancer of the endometrium. *Int J Epidemiol*. 1983 Sep;12(3):297–300.

12. Deligeoroglou E, Michailidis E, Creatsas G. Oral contraceptives and reproductive system cancer. *Ann N Y Acad Sci.* 2003 Nov;997:199–208.
13. Lesko SM, Rosenberg L, Kaufman DW, Helmrach SP, Miller DR, Strom B, Schottenfeld D, Rosenshein NB, Knapp RC, Lewis J. Cigarette smoking and the risk of endometrial cancer. *N Engl J Med.* 1985 Sep 5;313(10):593–6.
14. Zhou B, Yang L, Sun Q, Cong R, Gu H, Tang N, Zhu H, Wang B. Cigarette smoking and the risk of endometrial cancer: a meta-analysis. *Am J Med.* 2008 Jun;121(6):501–508.e3.
15. Setiawan VW, Pike MC, Karageorgi S, Deming SL, Anderson K, Bernstein L, Brinton LA, Cai H, Cerhan JR, Cozen W, Chen C, Doherty J, Freudenheim JL, Goodman MT, Hankinson SE, Lacey JV, Liang X, Lissowska J, Lu L, Lurie G, Mack T, Matsuno RK, McCann S, Moysich KB, Olson SH, Rastogi R, Rebbeck TR, Risch H, Robien K, Schairer C, Shu X-O, Spurdle AB, Strom BL, Thompson PJ, Ursin G, Webb PM, Weiss NS, Wentzensen N, Xiang Y-B, Yang HP, Yu H, Horn-Ross PL, De Vivo I, Australian National Endometrial Cancer Study Group. Age at last birth in relation to risk of endometrial cancer: pooled analysis in the epidemiology of endometrial cancer consortium. *Am J Epidemiol.* 2012 Aug 15;176(4):269–78.
16. McTiernan A, Tworoger SS, Ulrich CM, Yasui Y, Irwin ML, Rajan KB, Sorensen B, Rudolph RE, Bowen D, Stanczyk FZ, Potter JD, Schwartz RS. Effect of exercise on serum estrogens in postmenopausal women: a 12-month randomized clinical trial. *Cancer Res.* 2004 Apr 15;64(8):2923–8.
17. Moore SC, Gierach GL, Schatzkin A, Matthews CE. Physical activity, sedentary behaviours, and the prevention of endometrial cancer. *Br J Cancer.* 2010 Sep 28;103(7):933–8.
18. Gerber B, Krause A, Müller H, Reimer T, Külz T, Kundt G, Friese K. Ultrasonographic detection of asymptomatic endometrial cancer in postmenopausal patients offers no prognostic advantage over symptomatic disease discovered by uterine bleeding. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. 2001 Jan;37(1):64–71.
19. Clark TJ. Outpatient hysteroscopy and ultrasonography in the management of endometrial disease. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2004 Aug;16(4):305–11.
20. Van den Bosch T, Vandendael A, Van Schoubroeck D, Wranz PA, Lombard CJ. Combining vaginal ultrasonography and office

- endometrial sampling in the diagnosis of endometrial disease in postmenopausal women. *Obstet Gynecol.* 1995 Mar;85(3):349–52.
21. Nayar R, Wilbur DC. The Pap test and Bethesda 2014. *Cancer Cytopathol.* 2015 May;123(5):271–81.
 22. Schnatz PF, Guile M, O'Sullivan DM, Sorosky JI. Clinical significance of atypical glandular cells on cervical cytology. *Obstet Gynecol.* 2006 Mar;107(3):701–8.
 23. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Committee Opinion No. 440: The Role of Transvaginal Ultrasonography in the Evaluation of Postmenopausal Bleeding. *Obstet Gynecol.* 2009 Aug;114(2 Pt 1):409–11.
 24. Dove-Edwin I, Boks D, Goff S, Kenter GG, Carpenter R, Vasen HFA, Thomas HJW. The outcome of endometrial carcinoma surveillance by ultrasound scan in women at risk of hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma and familial colorectal carcinoma. *Cancer.* 2002 Mar 15;94(6):1708–12.
 25. Seebacher V, Schmid M, Polterauer S, Hefler-Frischmuth K, Leipold H, Concin N, Reinthaller A, Hefler L. The presence of postmenopausal bleeding as prognostic parameter in patients with endometrial cancer: a retrospective multi-center study. *BMC Cancer.* 2009;9:460.
 26. Folie 1 - empfehlungen_diagnostik_therapie_EC.pdf [Internet]. [cited 2017 May 14]. Available from: http://www.ago-online.de/fileadmin/downloads/leitlinien/uterus/empfehlungen_diagnostik_therapie_EC.pdf
 27. Henriët P, Gaide Chevonnay HP, Marbaix E. The endocrine and paracrine control of menstruation. *Mol Cell Endocrinol.* 2012 Jul 25;358(2):197–207.
 28. Lüllmann-Rauch R. *Histologie.* Georg Thieme Verlag; 2009. 668 p.
 29. Donoghue JF, Lederman FL, Susil BJ, Rogers PAW. Lymphangiogenesis of normal endometrium and endometrial adenocarcinoma. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2007 Jun;22(6):1705–13.
 30. Van der Auwera I, Cao Y, Tille JC, Pepper MS, Jackson DG, Fox SB, Harris AL, Dirix LY, Vermeulen PB. First international consensus on the methodology of lymphangiogenesis quantification in solid human tumours. *Br J Cancer.* 2006 Dec 18;95(12):1611–25.
 31. Cao R, Björndahl MA, Religa P, Clasper S, Garvin S, Galter D, Meister B, Ikomi F, Tritsarlis K, Dissing S, Ohhashi T, Jackson DG, Cao Y.

- PDGF-BB induces intratumoral lymphangiogenesis and promotes lymphatic metastasis. *Cancer Cell*. 2004 Oct;6(4):333–45.
32. Thieme E-Journals - Frauenheilkunde up2date / Volltext [Internet]. [cited 2017 May 16]. Available from: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/html/10.1055/s-0033-1358094#N68006>
 33. Kawamura L, Carvalho FM, Alves BGL, Bacchi CE, Goes JCS, Calil MA, Baracat EC, Carvalho JP. Association between intratumoral lymphatic microvessel density (LMVD) and clinicopathologic features in endometrial cancer: a retrospective cohort study. *World J Surg Oncol*. 2010;8:89.
 34. Breiteneder-Geleff S, Soleiman A, Kowalski H, Horvat R, Amann G, Kriehuber E, Diem K, Weninger W, Tschachler E, Alitalo K, Kerjaschki D. Angiosarcomas express mixed endothelial phenotypes of blood and lymphatic capillaries: podoplanin as a specific marker for lymphatic endothelium. *Am J Pathol*. 1999 Feb;154(2):385–94.
 35. Kahn HJ, Bailey D, Marks A. Monoclonal antibody D2-40, a new marker of lymphatic endothelium, reacts with Kaposi's sarcoma and a subset of angiosarcomas. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc*. 2002 Apr;15(4):434–40.
 36. Chen W-R, Chen M-G, Cai G-Y, Liao Z-Q. [Clinical significance of lymphatic vessel density in determining the length of distal resection in rectal cancer]. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi Chin J Gastrointest Surg*. 2008 Mar;11(2):136–40.
 37. Stiekema A, Lok C, Korse CM, van Driel WJ, van der Noort V, Kenter GG, Van de Vijver KK. Serum HE4 is correlated to prognostic factors and survival in patients with endometrial cancer. *Virchows Arch Int J Pathol*. 2017 Apr 11;
 38. Isci Bostanci E, Ugras Dikmen A, Girgin G, Gungor T, Baydar T, Nuri Danisman A. A New Diagnostic and Prognostic Marker in Endometrial Cancer: Neopterin. *Int J Gynecol Cancer Off J Int Gynecol Cancer Soc*. 2017 May;27(4):754–8.
 39. Shen Y, Wang X, Xu J, Lu L. SerpinE2, a poor biomarker of endometrial cancer, promotes the proliferation and mobility of EC cells. *Cancer Biomark Sect Dis Markers*. 2017 Apr 21;
 40. Habeeb O, Goodglick L, Soslow RA, Rao RG, Gordon LK, Schirripa O, Horvath S, Braun J, Seligson DB, Wadehra M. Epithelial membrane protein-2 expression is an early predictor of endometrial cancer development. *Cancer*. 2010 Oct 15;116(20):4718–26.

41. Wadehra M, Natarajan S, Seligson DB, Williams CJ, Hummer AJ, Hedvat C, Braun J, Soslow RA. Expression of epithelial membrane protein-2 is associated with endometrial adenocarcinoma of unfavorable outcome. *Cancer*. 2006 Jul 1;107(1):90–8.
42. Wang Y-W, Cheng H-L, Ding Y-R, Chou L-H, Chow N-H. EMP1, EMP 2, and EMP3 as novel therapeutic targets in human cancer. *Biochim Biophys Acta BBA - Rev Cancer*. 2017 Aug;1868(1):199–211.
43. Yang X, Ren H, Sun Y, Zhang L, Yang X, Li H, Shao Y, Fu J. The prognostic value of D-dimer levels in endometrial cancer patients treated with intensity-modulated radiation therapy. *Oncotarget*. 2017 Apr 11;8(15):25279–88.
44. Ding L, Ding Y, Mao X-H, Zhao J-F, Zhou H-J. Retrospective study of the prognostic significance of neutrophil-to-lymphocyte ratio for postsurgical outcomes of patients with endometrial carcinoma. *Int J Gynaecol Obstet Off Organ Int Fed Gynaecol Obstet*. 2017 Jun 9;
45. Ciesielski P, Jóźwiak P, Wójcik-Krowiranda K, Forma E, Cwonda Ł, Szczepaniec S, Bieńkiewicz A, Bryś M, Krześlak A. Differential expression of ten-eleven translocation genes in endometrial cancers. *Tumour Biol J Int Soc Oncodevelopmental Biol Med*. 2017 Mar;39(3):1010428317695017.
46. Cioca A, Ceausu AR, Marin I, Raica M, Cimpean AM. The multifaceted role of podoplanin expression in hepatocellular carcinoma. *Eur J Histochem EJH*. 2017 Feb 13;61(1):2707.
47. Ma W, Wang K, Yang S, Wang J, Tan B, Bai B, Wang N, Jia Y, Jia M, Cheng Y. Clinicopathology significance of podoplanin immunoreactivity in esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(5):2361–71.
48. Abe N, Ohtake T, Saito K, Kumamoto K, Sugino T, Takenoshita S. Clinicopathological significance of lymphangiogenesis detected by immunohistochemistry using D2-40 monoclonal antibody in breast cancer. *Fukushima J Med Sci*. 2016 Jun 8;62(1):57–63.
49. Norhisham NF, Chong CY, Safuan S. Peritumoral lymphatic vessel density and invasion detected with immunohistochemical marker D240 is strongly associated with distant metastasis in breast carcinoma. *BMC Clin Pathol [Internet]*. 2017 Feb 10 [cited 2017 May 25];17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5301373/>
50. Oki S, Sone K, Oda K, Hamamoto R, Ikemura M, Maeda D, Takeuchi M, Tanikawa M, Mori-Uchino M, Nagasaka K, Miyasaka A, Kashiyaama T, Ikeda Y, Arimoto T, Kuramoto H, Wada-Hiraike O, Kawana K,

Fukayama M, Osuga Y, Fujii T. Oncogenic histone methyltransferase EZH2: A novel prognostic marker with therapeutic potential in endometrial cancer. *Oncotarget*. 2017 Mar 17;

Mein Lebenslauf wird aus Gründen des Datenschutzes in der elektronischen Fassung meiner Arbeit nicht veröffentlicht.