

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Klinik und Poliklinik Gynäkologie.

Klinikdirektorin: Prof. Dr. med. Barbara Schmalfeldt

Die klinische Bedeutung von Prognosefaktoren und Carboanhydrase IX beim Endometriumkarzinom.

Dissertation

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

Vorgelegt von:

Maria Katharina Schöpfer, geb. Kremer
aus Berlin

Hamburg, 2020

Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 18.01.2021

Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: PD Dr. Eike Burandt

Prüfungsausschuss, zweiter Gutachter: Prof. Dr. Volkmar Müller

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	6
Tabellenverzeichnis	11
Abbildungsverzeichnis	12
1 Fragestellung	13
2 Einleitung	14
2.1 Das Endometriumkarzinom	14
2.1.1 Epidemiologie	14
2.1.2 Ätiologie und Risikofaktoren	15
2.1.3 Klassifikation	19
2.1.4 Symptome und Diagnostik	20
2.1.5 Therapie	21
2.1.6 Rezidiv	23
2.2 Prognosefaktoren beim Endometriumkarzinom	23
2.3 Carboanhydrase IX	30
2.3.1 Die Familie der Carboanhydrasen	30
2.3.2 Carboanhydrase IX: Vorkommen und Funktion	31
2.3.3 CA IX als Ansatzpunkt in der Tumorthherapie	36

2.4	Carboanhydrase in gynäkologischen Tumoren	40
2.4.1	Vulvakarzinom	40
2.4.2	Ovarialkarzinom	40
2.4.3	Zervixkarzinom	41
2.4.4	Mammakarzinom	42
2.5	Carboanhydrase IX im Endometriumkarzinom	42
3	Material und Methodik	44
3.1	Material	44
3.1.1	Zusammenstellung des Patientenkollektivs	44
3.1.2	Material für die Immunhistochemie	45
3.1.3	Material für den ELISA	48
3.2	Methoden	51
3.2.1	Immunhistochemie	51
3.2.2	ELISA	55
3.2.3	Statistische Auswertung	57
4	Ergebnisse	60
4.1	Kollektivbeschreibung	60
4.2	Bedeutung bekannter Prognosefaktoren im Endometriumkarzinom	63
4.2.1	FIGO- und T-Stadium	63
4.2.2	Grading	65
4.2.3	Myometriuminvasion (DOI) und tumorfreie Distanz zur Serosa (TFD)	65
4.2.4	Histologien	68
4.2.5	Gefäß- und Lymphgefäßinvasion	69
4.2.6	Lymphknotenmetastasen (N1) und Fernmetastasen (M1)	69
4.2.7	Diabetes mellitus, BMI und arterieller Hypertonus	70

4.3	Die CA IX-Expression im Tumorgewebe als Prognosefaktor im Endometriumkarzinom	72
4.3.1	Intratumorale CA IX-Expression und klinisch-pathologische Parameter	73
4.3.2	CA IX-Expression und Überleben	75
4.4	Die Konzentration der löslichen CA IX im Serum (s-CA IX) als prognostischer Prognosefaktor im Endometriumkarzinom	76
4.4.1	Serumkonzentration von CA IX und klinisch-pathologische Parameter	77
4.4.2	s-CA IX-Konzentration und Überleben	77
4.5	Overall, Event-free und Recurrente Ereigniszeitanalyse	78
4.6	Cause-Specific und Competing Risk (Todesursache)	79
5	Diskussion	80
5.1	Kollektiv und Methodik	80
5.2	Prognosefaktoren beim Endometriumkarzinom	81
5.3	Carboanhydrase IX als Prognosefaktor beim Endometriumkarzinom . . .	88
6	Zusammenfassung	97
	Literaturverzeichnis	100
	Danksagung	128
	Lebenslauf	129
	Eidesstattliche Versicherung	130

Abkürzungsverzeichnis

Nicht genannte Abkürzungen entsprechen physikalischen bzw. chemischen Maßeinheiten oder stellen feststehende, allgemein gebräuchliche Begriffe dar (z.B. *CRP*, *WHO* etc.).

A

ABC	-	Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex
ADCC	-	antibody-dependent cell cytotoxicity (engl.); Antikörper-vermittelte zelluläre Toxizität (dt.)
α -CA	-	Carboanhydrase, die zur Klasse der Cas bei Säugetieren gehört
ANOVA	-	Analysis of Variance (statistisches Verfahren)
Aqua dest.	-	Aqua destillata
AS	-	alternatively spliced (engl.); alternativ gespliced (dt.)
AWMF	-	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V.

B

B	-	Biotin
BMI	-	Body Mass Index (in kg/m ²)
BSA	-	bovine serum albumin (engl.); Rinderalbumin (dt.)

C

CA	-	Carboanhydrase
CA IX	-	Carboanhydrase IX; Membrantigen MN
CCC	-	clear cell carcinoma (engl.); klarzelliges Adenokarzinom (dt.)
CSS	-	Cause Specific Survival (engl.); krankheitsspezifisches Überleben (dt.)

D

DFS	-	Disease Free Survival
DOI	-	depth of invasion (engl.); Tiefe der Myometriuminvasion (dt.)
DNA	-	Deoxyribonucleic Acid (engl.); Desoxyribonukleinsäure (dt.)

E

ECD	-	extrazellulären Domäne
EGF	-	Epidermal Growth Factor
ELISA	-	Enzym-linked Immunosorbent Assay

F

FIGO	-	Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique
FITC-CAI	-	Fluorescein-konjugierte Carboanhydraseinhibitoren Thioureido-homosulfanilamide
FL	-	full-length (engl.); normallänge (=ungesplicte) Variante von CA IX (dt.)
FDG	-	Fluorodesoxyglucose

G

G	-	Grading; Differenzierungsgrad
---	---	-------------------------------

H

HIER	-	Heat Induced Epitope Retrieval (engl.); hitzeinduzierte Epitopdemaskierung (dt.)
HIF-1	-	Hypoxie induzierter Faktor-1
HIF- α	-	α -Untereinheit des HIF
HNPCC	-	nicht-polypöses kolorektales Karzinom
HRP	-	horseradish peroxidase (engl.); Meerrettichperoxidase (dt.)

I

IHC - Immunhistochemie

L

L - Lymphangioinvasion

LK - Lymphknoten

LVSI - lymphovascular space invasion (engl.); Invasion des Lymphgefäßraumes (dt.)

M

M - Markermolekül

MI - Myometriuminvansion

O

OAS - Overall Survival (engl.); Gesamtüberleben (dt.)

P

PBS - Phosphate-buffered Saline (engl.); Phosphat-gepufferte Salzlösung (dt.)

PG - Proteoglykan-ähnliche Region

R

R - Resektionsrand

RCC - Renal Cell Carcinoma (engl.); Nierenzellkarzinom (dt.)

RNA - Ribonucleic Acid (engl.); Ribonukleinsäure (dt.)

S

s-CA IX - soluble Carboanhydrase IX (engl.), lösliche Carboanhydrase IX (dt.)

T

TFD	-	tumor-free distance (engl.); tumorfreie Distanz (dt.)
TMA	-	Tissue Microarray
TMB	-	Tetramethylbenzidin

U

UPSC	-	Uterine papillary serous carcinoma (engl.); serös-papilläres Adenokarzinom des Ute- rus/Endometriumkarzinom (dt.)
------	---	---

V

V	-	Angioinvasion
VEGF	-	Vascular Endothelial Growth Factor
VHL	-	von Hippel-Lindau

Tabellenverzeichnis

2.1	Klassifikation Endometriumkarzinom	20
2.2	CA IX-Expression in verschiedenen Tumoren	35
4.1	Altersverteilung	61
4.2	Basischarakteristika	62
4.3	Follow-up	63
4.4	Histopathologische Parameter in Abhängigkeit von CA IX-Expression . .	74
4.4	Histopathologische Parameter in Abhängigkeit von CA IX-Expression . .	75

Abbildungsverzeichnis

2.1	Histologie eines endometrioiden Endometriumkarzinoms	17
2.2	Histologie eines serösen Endometriumkarzinoms	18
2.3	CA IX-Reaktionskaskade	34
3.1	Prinzip immunhistochemischer Reaktionen	53
3.2	Immunhistochemisches Färbemuster von CA IX	55
3.3	Prinzip des ELISA	56
4.1	Gesamt- und rezidivfreies Überleben: FIGO	64
4.2	Gesamt- und rezidivfreies Überleben: Grading	66
4.3	Gesamt- und rezidivfreies Überleben für die Myometriuminvasion und die tumorfreie Distanz zur Serosa	67
4.4	Gesamt- und rezidivfreies Überleben: Histologien	68
4.5	Gesamt- und rezidivfreies Überleben: Angio- und Lymphgefäßinvasion .	70
4.6	Gesamt- und rezidivfreies Überleben: Lymphknoten- und Fernmetastasen	71
4.7	Gesamt- und rezidivfreies Überleben: D. mellitus	72
4.8	CA IX-Expressionsmuster	73
4.9	Gesamt- und rezidivfreies Überleben: CA IX positiv vs. negativ	76
4.10	Gesamt- und rezidivfreies Überleben: lösliche Serum-CA IX-Konzentration ober- und unterhalb des Median	78

1 Fragestellung

Gegenstand dieser Studie sind Prognosefaktoren beim Endometriumkarzinom sowie die prognostische Bedeutung der CA IX-Expression im Tumorgewebe und Serum von Patientinnen mit primärem Endometriumkarzinom.

Zentrale Fragestellung:

1. Besteht eine Assoziation zwischen tumoraler CA IX-Expression und bekannten klinischen oder histopathologischen Prognoseparametern?
2. Ist die intratumorale Expression von CA IX von prognostischer Bedeutung für das Überleben der Patientinnen?
3. Besteht ein Zusammenhang zwischen der intratumoralen CA IX-Expression und der CA IX-Expression im Serum?
4. Wie ist der Einfluss bekannter klinisch-pathologischer Prognosefaktoren auf das Outcome der Patientinnen im betrachteten Kollektiv?

2 Einleitung

2.1 Das Endometriumkarzinom

2.1.1 Epidemiologie

Das Endometriumkarzinom ist der häufigste maligne Tumor des weiblichen Genitaltraktes in der westlichen Welt. Die höchste Inzidenz findet sich in Nordamerika und den westeuropäischen Ländern. Hier handelt es sich um den vierthäufigsten malignen Tumor der Frau nach Mamma-, Bronchial- und kolorektalem Karzinom. In den USA liegt das kumulative Erkrankungsrisiko einer Frau bis zum 75. Lebensjahr bei 1,7 %^[192]. In Deutschland erkranken jährlich ca. 11.000 Frauen. Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei 69 Jahren (Robert Koch Institut 2015). Trotz Fortschritten in der Früherkennung und der Behandlung sind die jährliche Inzidenz sowie die Sterberate in den letzten 20 Jahren steigend. Dies wird auf die gestiegene Lebenserwartung und eine generelle Zunahme der krebsbedingten Todesfälle sowie einen Anstieg von Adipositas in der Gesellschaft zurückgeführt. Auch die verbreitete medikamentöse Brustkrebstherapie mit Tamoxifen scheint einen Einfluss zu haben^[122, 192]. Da der Großteil der Tumoren in einem frühen Stadium (80 % in FIGO Stadium I) festgestellt wird, ist die Prognose in der Regel gut. Die 5-Jahres-Überlebensrate beträgt hier über 95 %^[39]. In Europa steht das Endometriumkarzinom an neunter Stelle der krebsbedingten Todesursachen bei Frauen und macht 2 % der krebsbedingten Todesfälle der Frau aus^[57].

2.1.2 Ätiologie und Risikofaktoren

Einer der wichtigsten Risikofaktoren der Entstehung eines Endometriumkarzinoms ist ein fortgeschrittenes Alter^[139]. Die immer älter werdende Bevölkerung ist daher auch ein Faktor, der für die weltweite Zunahme der Erkrankung sorgt^[139, 122].

Bei den meisten Patientinnen mit einem Endometriumkarzinom liegt ein Überschuss an Östrogen vor. Dieser stellt den zentralen Risikofaktor beim Endometriumkarzinom dar. Einerseits kann er durch eine endogene Östrogenüberproduktion entstehen, andererseits auch durch eine Substitution hervorgerufen werden.

Eine übermäßige Östrogenproduktion findet vor allem im Fettgewebe übergewichtiger Frauen statt. Hier kommt es durch die Konversion von Androgenen zu Östrogen zu einem Östrogenüberschuss.

Die typischen Charakteristika einer Endometriumkarzinompatientin sind neben Übergewicht auch andere Faktoren des metabolischen Syndroms wie etwa Hypertonus oder eine Hypertriglyceridämie. Laut einer Metaanalyse aus dem Jahr 2014 steigt das relative Risiko, ein Endometriumkarzinom zu entwickeln, bei Patientinnen mit einem metabolischen Syndrom um den Faktor 1,89. Betrachtet man die Faktoren des metabolischen Syndroms separat, so steigt das relative Risiko am stärksten bei Adipositas ($RR: 2,21$)^[56]. Das Krebsrisiko steigt hierbei konkordant mit dem BMI (*Übergewicht: 1,32, Fettleibigkeit: 2,54*)^[239]. Andererseits scheint ein hoher BMI prognostisch günstig. Patientinnen mit einem hohem BMI zeigen eher differenzierte Tumoren mit einem niedrigen Tumorstadium und einer endometrioiden Differenzierung als dünne Patientinnen^[64].

Es wird angenommen, dass Diabetes mellitus Typ II ein unabhängiger Risikofaktor ist. Eine Metaanalyse aus dem Jahre 2007 legt den Zusammenhang zwischen Diabetes mellitus (überwiegend Typ II) und dem Risiko, an einem Endometriumkarzinom zu erkranken, nahe. Aus dieser Studie ergibt sich für Erkrankte ein nahezu doppeltes Risiko im Vergleich zu gesunden Frauen^[60]. Eine große prospektive US-amerikanische Studie zeigte die Bedeutung von Diabetes mellitus als Prädiktor für eine erhöhte Sterblichkeit bei Vorliegen

eines Malignoms. In diesem Zusammenhang war auch für das Endometriumkarzinom ein erhöhtes Risiko festzustellen^[41]. Eine polnische Studie wies einen signifikanten Zusammenhang zwischen Diabetes mellitus Typ II und dem Overall Survival nach ^[72]. Eine englische Studie aus dem Jahre 2014 zeigte jedoch, dass das erhöhte Risiko bei Diabetes mellitus Typ II eher aus dem häufig assoziierten Übergewicht resultiert ^[129].

Weitere Risikofaktoren aus reproduktionsmedizinischer Sicht sind Nulliparität und Infertilität, wobei die Infertilität durch ein Polyzystisches Ovarialsyndrom die höchste Risikosteigerung (ca. 3-fach) mit sich bringt^[16].

Auch eine frühe Menarche und späte Menopause gelten als Risikofaktoren, da es hier durch die höhere Anzahl von Menstruationszyklen zu einer erhöhten Östrogenexposition kommt. Eine postmenopausale Mono-Östrogentherapie steigert das Risiko bei einer Östrogengabe von mind. 5 Jahren sogar um das 10- bis 30-fache^[8]. Ein vermindertes Krebsrisiko wurde bei der Einnahme von kombinierten oralen Kontrazeptiva beobachtet. Das Risiko sinkt hierbei mit der Einnahmedauer^[221]. Zu beachten ist weiterhin, dass die Gabe des selektiven Östrogenrezeptor-Modulators Tamoxifen bei der Brustkrebstherapie ebenfalls zu einem Risikoanstieg führt, da Tamoxifen eine östrogenähnliche Wirkung auf das Endometrium hat. Fisher et al. beschrieb eine Risikoerhöhung für Patientinnen unter einer Tamoxifentherapie um den Faktor 2,53 im Vergleich zur Placebogruppe, wobei ein Zusammenhang zwischen Einnahmedauer und Risikosteigerung festgestellt wurde^[58, 205].

Auch bei Östrogen-produzierenden Tumoren wie Granulosazelltumoren besteht ein erhöhtes Risiko simultan ein Endometriumkarzinom zu entwickeln^[39].

Hinsichtlich der Biologie, des klinischen Verhaltens und der molekularen Pathogenese unterscheidet man nach Bokhman zwei Tumortypen. In der Mehrheit der Fälle, 70 - 80 %, handelt es sich um Typ I (low-grade). Das Wachstum dieses Tumortyps wird durch Östrogene stimuliert. Histologisch zeigt er eine endometrioide Differenzierung und entsteht auf dem Boden einer komplexen atypischen Endometriumhyperplasie. Ferner ist eine Assoziation dieses Tumortyps mit Übergewichtigkeit, Hyperlipidämie, Anovulation, Infertili-

tät und einer späten Menopause beschrieben. Der Tumor ist bei Diagnosestellung häufig auf den Uterus beschränkt und geht nur mit einer geringen Myoinvasion einher. Er ist als prognostisch günstig zu betrachten (Abb. 2.1).

Beim Typ II (high-grade) dagegen handelt es sich vornehmlich um seröse oder klarzellige Karzinome. Im Gegensatz zu Typ I sind diese Tumoren in der Regel nicht durch Östrogene stimulierbar. Sie entstehen auf dem Boden eines atrophen Endometriums und treten daher häufiger bei älteren Patientinnen auf als Östrogen-assoziierte Tumoren. Endometriumkarzinome vom Typ II zeigen meist ein aggressiveres Verhalten und eine stärkere Tendenz zur Metastasenbildung. Damit gehen sie insgesamt mit einer schlechteren Prognose einher als Tumoren vom Typ I^[25] (Abb. 2.2, S. 18).

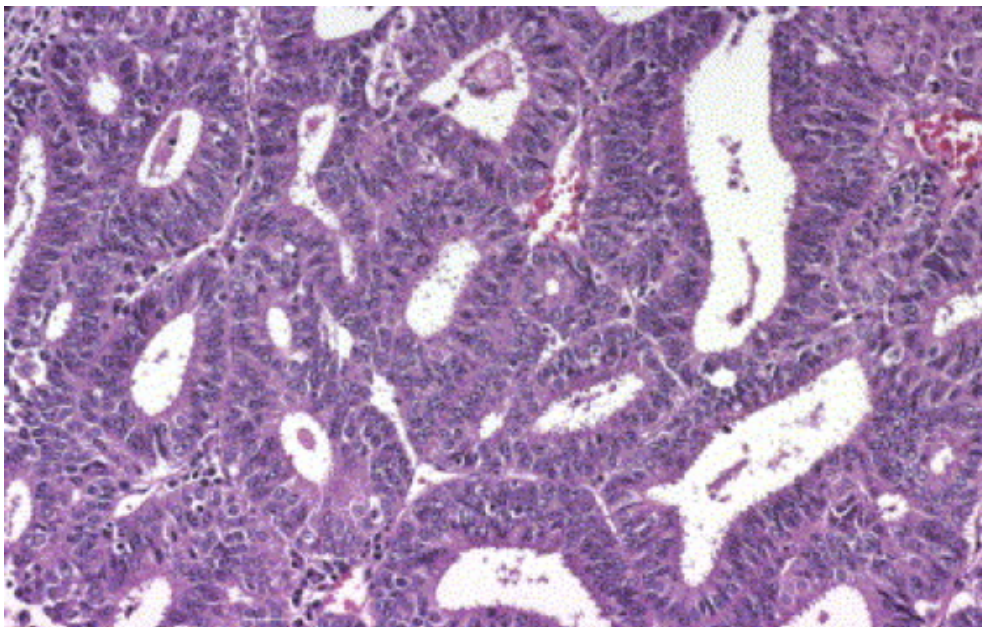


Abbildung 2.1: Typisches Drüsenmuster eines endometrioiden Endometriumkarzinoms bei einer Frau mittleren Alters ^[165].

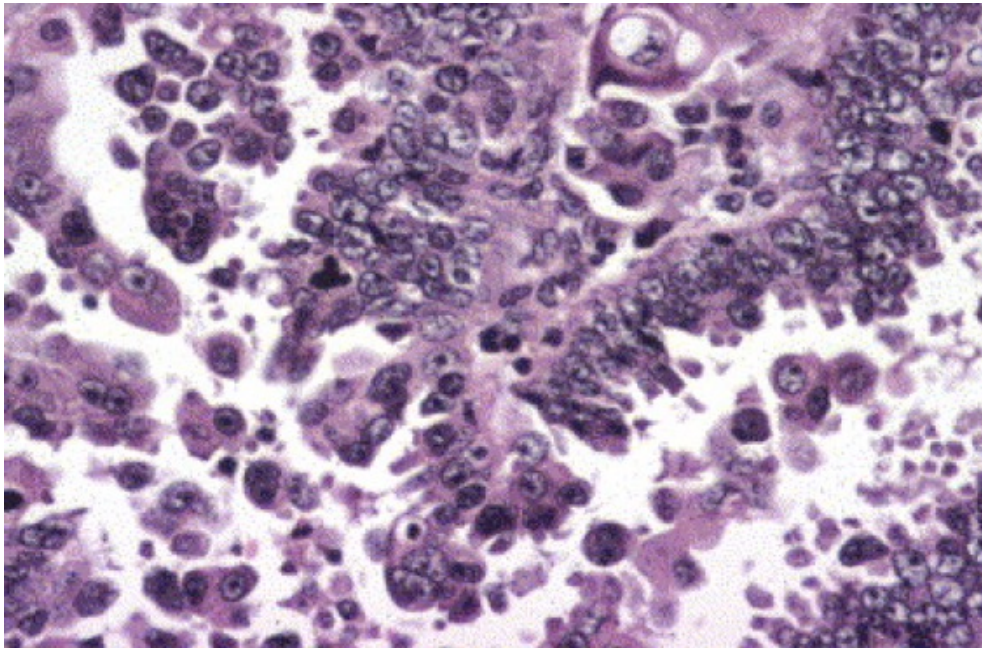


Abbildung 2.2: Ein seröses high-grade Endometriumkarzinom bei einer älteren Frau^[165].

In der klinischen Praxis sind jedoch häufig auch Mischtypen aus Typ I und Typ II anzutreffen^[123]. Die Klassifikation nach Bokham bietet eine gute Grundlage, die jedoch im Rahmen der modernen Medizin differenziert betrachtet werden muss und zukünftig sicherlich Modifikationen bzw. Erweiterungen bedarf^[197].

Das Lynch-Syndrom als hereditäre Form des Endometriumkarzinoms

In 2 - 3 % der Fälle liegt eine erbliche Form des Endometriumkarzinoms im Rahmen eines Lynch-Syndroms vor, auch Hereditäres nichtpolypöses kolorektales Karzinom (HNPCC) genannt. Hierbei handelt es sich um eine autosomal dominante Erkrankung, die zu Mutationen in DNA Mismatch-Reparaturgenen und schließlich einer Mikrosatelliteninstabilität führt. Am häufigsten finden sich die Mutationen in den Genen MSH2 (50 - 66 %) und MLH1 (24 - 40 %). Das Endometriumkarzinom ist nach dem kolorektalen

Karzinom der zweithäufigste maligne Tumor bei Frauen mit einem Lynch Syndroms^[208]. Bei den Betroffenen liegt die Wahrscheinlichkeit bei 40 - 60 % ein Endometriumkarzinom als erste klinische Manifestation des Lynch-Syndroms zu entwickeln^[126]. Daher wurden in einigen Ländern - u.a. in den USA - Screeningprogramme bei Patientinnen mit Endometriumkarzinom eingeführt, um eine hereditäre Genese im Rahmen eines Lynch-Syndroms frühzeitig zu erkennen und so ggf. ein Screening auf ein kolorektales Karzinom einzuleiten. Das Risiko in den nächsten 10 Jahren eine weitere maligne Erkrankung zu entwickeln beträgt bei diesen Patientinnen 50 %. Das Lebenszeitrisko ein Ovarialkarzinom zu entwickeln liegt z.B. bei 9 - 12 %.

Das mittlere Erkrankungsalter der Frauen mit Endometriumkarzinom und Lynch-Syndrom beträgt 46,8 Jahre. Sie weisen in der Regel nicht die typischen Risikofaktoren eines sporadischen Endometriumkarzinoms auf. Die Histologie ist unterschiedlich und kann sowohl eine endometrioide als auch nicht-endometrioide Differenzierung zeigen^[220].

2.1.3 Klassifikation

1988 beschloss die Internationale Vereinigung für Gynäkologie und Geburtskunde (FIGO) die Umstellung des Staging Systems von einer klinischen auf eine chirurgisch-pathologische Klassifikation. Für das chirurgische Staging nach der aktuellen FIGO-Klassifikation ist eine Hysterektomie, sowie stadienabhängig die Beurteilung der Lymphknoten (pelvin und paraaortal) und der Adnexe sowie die Durchführung einer Peritonealzytologie nötig. Die pathologische Untersuchung beinhaltet die Feststellung des histologischen Gratings, der Tiefe der Myometriuminvasion und einer möglichen Mitbeteiligung der Cervix^[135]. Eine weitere Änderung des Systems erfolgte 2009 um wichtige histopathologische Prognosefaktoren in die Klassifikation zu integrieren^[42] (siehe Tab. 2.1, S. 20).

Klassifikation Endometriumkarzinom		
TNM	FIGO	
Tx		Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0		Kein Anhalt für Primärtumor
T1	I	Tumor begrenzt auf Corpus uteri
T1a	IA	Tumor begrenzt auf Endometrium oder infiltriert weniger als die Hälfte des Myometriums
T1b	IB	Tumor infiltriert die Hälfte oder mehr des Myometriums
T2	II	Tumor infiltriert das Stroma der Zervix, breitet sich jedoch nicht jenseits des Uterus aus
T3 und/oder N1	III	Lokale und/oder regionäre Ausbreitung wie nachfolgend beschrieben:
T3a	IIIA	Tumor befällt Serosa und/oder Adnexe (direkte Ausbreitung oder Metastasen)
T3b	IIIB	Vaginal- oder Parametriumbefall (direkte Ausbreitung oder Metastasen)
N1	IIIC	Metastasen in Becken- und/oder paraaortalen Lymphknoten
	IIIC1	Metastasen in Beckenlymphknoten
	IIIC2	Metastasen in paraaortalen Lymphknoten
T4	IVA	Tumor infiltriert Blasen- und/oder Rektumschleimhaut
M1	IVB	Fernmetastasen, einschließlich intraabdomineller Metastasen (ausgenommen Metastasen in Vagina, Beckenserosa oder Adnexen, einschließlich Metastasen in inguinalen und anderen intraabdominalen Lymphknoten als paraaortalen und/oder Beckenlymphknoten)

Tabelle 2.1: Klassifikation des Endometriumkarzinoms (modifiziert nach [54]).
Abk.: FIGO - Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique.

2.1.4 Symptome und Diagnostik

Klassischerweise präsentieren sich Patientinnen mit einem Endometriumkarzinom mit einer postmenopausalen Blutung. Bei ca. 20 % der Patientinnen mit postmenopausaler Blutung lassen sich Malignome feststellen, die in der Mehrheit das Endometrium betreffen^[180]. Um eine Endometriumhyperplasie oder Neoplasie auszuschließen sollte

jede irreguläre perimenopausale und postmenopausale Blutung gynäkologisch abgeklärt werden.

Als erster diagnostischer Schritt bietet sich die Untersuchung mittels transvaginalem Ultraschall an, da dieser die Beurteilung des Endometriums mit Bestimmung der Endometriumdicke ermöglicht. Es zeigte sich, dass bei postmenopausalen Patientinnen eine Endometriumdicke von 5 mm oder weniger mit einem geringen Risiko für ein Endometriumkarzinom einhergeht, diese also einen hohen negativen prädiktiven Wert hat. Eine Endometriumdicke von mehr als 5 mm hingegen ist verdächtig und erfordert weitere diagnostische Maßnahmen im Falle einer postmenopausalen Blutung [11, 27, 115, 171]. Bei klinisch weiterhin bestehendem Verdacht ist eine feingewebliche Untersuchung des Endometriums unabdingbar. Das Standardverfahren hierfür ist eine fraktionierte Abrasio ggf. in Kombination mit einer Hysteroskopie^[54]. Auch die weniger invasive Endometriumbiopsie mittels einer Pipelle hat sich in diversen Studien als geeignetes Verfahren erwiesen^[1, 52]. Eine Endometriumbiopsie unter hysteroskopischer Kontrolle bietet sich besonders bei fokalen Läsionen des Endometriums an^[55, 114].

2.1.5 Therapie

2.1.5.1 Operative Therapie

Bei der Behandlung des Endometriumkarzinoms ist die operative Entfernung des Tumors die Therapie der Wahl. Die Operation sollte standardmäßig die Entfernung der Gebärmutter, der Adnexe beidseits, sowie eine zytologische Untersuchung der Peritonealflüssigkeit umfassen.

Eine Entnahme der pelvinen und paraaortalen Lymphknoten bis zum Nierenstiel sollte bei Tumoren mit einem Tumorstadium $\geq$ pT1b, einer schlechten Differenzierung (G3) oder einer serösen oder klarzelligen Histologie erfolgen.

Der Zugang wird in der Regel über eine Medianlaparotomie oder ein laparoskopisches Verfahren gewählt, wobei die unmittelbar postoperative Morbidität bei laparoskopischen Verfahren im Vergleich zu offenen Verfahren geringer ist. In Ausnahmefällen ist die alleinige vaginale Hysterektomie möglich.

Bei fortgeschrittenem Tumorstadium bzw. einer klarzelligen oder serösen Histologie sollten zusätzlich Proben vom Peritoneum genommen und eine Omentektomie durchgeführt werden.

Bei Patientinnen mit fortgeschrittenen Tumorerkrankungen wird die komplette Entfernung aller Tumormanifestationen inklusive befallener Lymphknoten angestrebt, da hierdurch der Erfolg einer adjuvanten Strahlen- oder Chemotherapie verbessert werden kann. Auch in nicht mehr kurablen Stadien können Patientinnen von einem operativen Eingriff mit Hysterektomie zur Blutungsprophylaxe und Tumordebulking profitieren^[53, 54].

2.1.5.2 Strahlentherapie

Eine primäre Radiatio ist ausschließlich bei inoperablen Patientinnen indiziert. Bei Patientinnen mit erhöhtem Risiko für ein lokoregionäres Rezidiv sollte eine adjuvante Bestrahlung in Form einer Brachytherapie der Vagina durchgeführt werden. Bei positivem oder unklarem Lymphknotenstatus wird diese in der Regel mit einer Teletherapie kombiniert. Studien zeigten allerdings, dass eine adjuvante Strahlentherapie in frühen Krankheitsstadien (Stadium I und II) zwar das lokoregionäre Rezidivrisiko senkt, das Gesamtüberleben jedoch unbeeinflusst bleibt^[100, 45]. Eine Bestrahlung ist auch im Rahmen einer palliativen Therapie möglich.

2.1.5.3 Systemische Therapie

Bei fortgeschrittenem Tumorstadien und schlechter Differenzierung besteht aufgrund des erhöhten Risikos einer distanten Metastasierung die Indikation zu einer adjuvanten Che-

motherapie. Hier kommt häufig eine Kombination aus platinhaltigen Chemotherapeutika und Paclitaxel zum Einsatz. Eine Hormontherapie mit Gestagenen erfolgt in der Regel nur in einer palliativen Situation.

2.1.6 Rezidiv

Ca. 25 % der Patientinnen mit Endometriumkarzinom entwickeln im Verlauf ihrer Erkrankung ein Rezidiv bzw. Fernmetastasen^[54].

über 70 % der Rezidive treten innerhalb von 2 - 3 Jahren nach der primären Therapie auf ^[19]. Bei ungefähr der Hälfte der Rezidive handelt es sich um Lokalrezidive. Sie betreffen vor allem die Vagina und das Becken. Die andere Hälfte manifestiert sich als Fernmetastasen^[54].

2.2 Prognosefaktoren beim Endometriumkarzinom

Für die Prognose ausschlaggebende pathologische und chirurgische Parameter sind: chirurgisch-pathologisches Tumorstadium, histologischer Typ, histologische Differenzierung (Grading), Tiefe der muskulären Invasion in die Gebärmutterwand, tumorfreie Distanz zur Serosa (TFD), Gefäß- und Lymphgefäßinvasion^[131] und eine Beteiligung der Zervix^[165], sowie der Lymphknotenstatus^[19].

Die prognostische Bedeutung des FIGO-Stadiums

Das FIGO-Stadium gilt als der stärkste Prognosefaktor bei Patientinnen mit einem

Endometriumkarzinom^[2, 63, 109, 230]. Ein Ziel bei der Überarbeitung des Staging-Systems im Jahre 2009 bestand darin, die Prognose der einzelnen Stadien möglichst präzise wiedergeben zu können. In der aktuellen Version werden Patientinnen mit einer Lymphknotenbeteiligung beispielsweise in zwei Gruppen unterteilt (Befall der pelvinen Lymphknoten = IIIC1, Befall der paraaortalen Lymphknoten = IIIC2) um dem prognostischen Unterschieden gerecht zu werden. Zudem wurden die Stadien pT1a-c zu pT1a-b zusammengefasst^[42].

Bei einem Großteil der Patientinnen ist der Tumor bei Diagnosestellung auf den Uterus beschränkt (FIGO I). In etwa 75 % der Fälle liegt ein FIGO-Stadium I oder II vor. Hier beträgt das 5-Jahres-Überleben 74 - 91 %. In fortgeschrittenen Tumorstadien ist das 5-Jahres-Überleben jedoch deutlich schlechter. Im Stadium III beträgt es 57 - 66 % und im Stadium IV lediglich 20 - 26 %^[19].

Die prognostische Rolle des histologischen Typs

Das Endometriumkarzinom vereint verschiedene histologische Subtypen, wobei das endometrioides Endometriumkarzinom am häufigsten vorkommt (ca. 82 % aller Endometriumkarzinome). Mit einer fünf-Jahres-Überlebensrate von ca. 80 % hat es unter den histologischen Typen die beste Prognose^[101, 177]. Auch das eher seltene muzinöse Adenokarzinom gehört zur Gruppe der low-grade Tumore, zeigt in der Regel eine geringe Myoinvasion und hat eine gute Prognose^[165]. Histologische Typen, die mit einer verhältnismäßig schlechten Prognose einhergehen und häufig letal enden, sind das seröse, das klarzellige, das squamöse und das undifferenzierte Endometriumkarzinom. Die fünf-Jahres-Überlebensraten bewegen sich hier zwischen 30 % und 70 %^[165]. Es folgt eine Beschreibung der eher seltenen, aber aufgrund ihrer schlechten Prognose bedeutsamsten histologischen Typen.

1. Serös-papilläres Adenokarzinom (UPSC)

Das seröse Endometriumkarzinom zählt zu den aggressivsten Subtypen. Es zeigt eine starke Metastasierungstendenz, hohe Rezidivraten und eine schlechte Prognose.

Je nach Studie macht der Anteil der serösen Adenokarzinome lediglich 3 - 10 % der Endometriumkarzinome aus. Der Anteil an der Sterblichkeit aufgrund eines Endometriumkarzinoms beträgt jedoch 25 %^[44, 98, 173]. Ca. 87 % der Patientinnen mit seröser Histologie zeigen ein fortgeschrittenes Tumorstadium^[65, 70, 163]. Betrachtet man das 5-Jahres-Überleben bei Patientinnen im FIGO Stadium I, so beträgt dieses bei Patientinnen mit endometrioid differenzierten Tumoren 80 - 90 %, bei Patientinnen mit serösen Tumorteilen dagegen nur 45 - 78 %^[43, 45, 70, 99].

2. Klarzelliges Adenokarzinom (CCC)

1 - 6 % der Endometriumkarzinome sind histologisch gesehen klarzellige Adenokarzinome. Auch hier ist die Rezidivneigung ausgeprägter und das Gesamtüberleben schlechter als beim endometrioiden Adenokarzinom^[135]. Die Fünf-Jahres-Überlebensrate bewegt sich abhängig vom Tumorstadium zwischen 34 % und 75 %^[38].

Im Vergleich zu anderen histologischen Typen treten beim klarzelligen Adenokarzinom vermehrte distante Metastasen auf. In einer Studie von Abeler et al. befanden sich zwei Drittel der Rezidive außerhalb des kleinen Beckens. Eine andere Studie stellte eine besondere Häufung von Lungen- und Knochenmetastasen fest^[3, 38, 141].

Die prognostische Rolle des histologischen Gradings

Während nicht endometrioiden Endometriumkarzinome per Definition als high grade Tumore gelten, ist die Einteilung des histologischen Differenzierungsgrads (Grading) endometrioider Tumore von äußerster Wichtigkeit.

Das aktuelle FIGO Grading System von 1988 umfasst ein dreistufiges System, welches

sich in erster Linie nach der Gewebsarchitektur der soliden (nicht squamösen) Tumorteile richtet. Ergänzend ist eine Bewertung der Zellkerne vorzunehmen. Es zeigte sich, dass Tumore, die starke Zellkernatypien (Grade 3) aufweisen mit einer schlechteren Prognose einhergehen. Daher sollte das Grading in diesen Fällen angepasst und um eine Stufe angehoben werden^[136, 233].

Die prognostische Bedeutung des (histologischen) Gratings ist lange bekannt^[2, 233]. Allerdings zeigten Studien, dass das Grading mit anderen Risikofaktoren (Alter, Tumorstadium und Tiefe der Myometriuminvasion) korreliert und nicht als unabhängiger Prognosefaktor anzusehen ist^[2, 211, 234]. Einige Autoren raten zu einer Modifikation des dreistufigen FIGO-Systems hin zu einem zweistufigen Grading-System, bei dem lediglich low-grade und high-grade Tumore unterschieden werden^[113, 210].

Die prognostische Bedeutung der Tiefe der Myometriuminvasion (DOI)

Die Tiefe der Myometriuminvasion (DOI) ist als Abstand zwischen der Endometrium-Myometrium-Grenze und dem Punkt der tiefsten Myometriuminvasion definiert. Ein weiterer, in der FIGO-Klassifikation verwendeter Begriff, ist die Myometriuminvasion (MI). Diese wird anhand der DOI und der Myometriumdicke berechnet und in mehr bzw. weniger als 50 % unterteilt^[33].

In diversen Studien zeigte sich die Invasionstiefe ins Myometrium, vor allem bei niedrigen Tumorstadien, als unabhängiger Prognosefaktor für das Endometriumkarzinom^[2, 76, 138]^[234]. Bei Tumoren, die sich auf das Endometrium beschränken, kommen laut Studien in 8 % der Fälle extrauterine Tumormanifestationen vor. Ist ausschließlich das innere Drittel des Myometriums befallen, weisen 12 % der Tumore extrauterine Manifestationen auf. Wohingegen bei einer Infiltration der gesamten Myometriumsdicke 46 % der Patientinnen extrauterine Tumorabsiedlungen zeigen^[48]. Studien zeigten auch einen direkten Zusammenhang zwischen Myometriuminvasion und Rezidivrisiko bzw. 5-Jahres-Überlebensrate^[138, 235].

Bei der Entscheidung für oder gegen die Durchführung einer pelvinen und paraaortalen Lymphknotendisektion sollte die Invasionstiefe des Tumors ins Myometrium, neben anderen Risikofaktoren, ebenfalls Beachtung finden. Eine Myoinvasion von $> 50\%$ der Myometriumdicke führt zu einem erhöhten Risiko für Lymphknotenmetastasen, so dass in diesem Fall eine Lymphknotenentfernung durchgeführt werden sollte. Dies führt zu einer Senkung der Mortalität^[115, 127, 187].

Die prognostische Bedeutung der tumorfreien Distanz (TFD)

Neben der Eindringtiefe des Tumors in das Myometrium (Myometriuminvasion) stellt die Messung der tumorfreien Distanz eine weitere Möglichkeit dar, die Infiltrationstiefe des Tumors zu bestimmen. Bei der tumorfreien Distanz wird der Abstand zwischen dem Punkt der maximalen Tumordinfiltration in das Myometrium und der Serosa der Uteruswand gemessen. In einigen Fällen etwa bei Uterusläsionen oder Unregelmäßigkeiten beim Übergang zwischen Endometrium und Myometrium kann die Bestimmung der DOI erschwert sein. Mehrere Studien haben sich bereits mit der Frage beschäftigt, ob die Messung der TFD im Vergleich zur DOI bzw. MI eine bessere Aussagekraft bzgl. der Prognose besitzt, da diese unabhängig von der Myometriumdicke ist^[33, 108, 150]. Die Ergebnisse bzgl. der prognostischen Relevanz der TFD bzw. ihrer Überlegenheit im Vergleich zu DOI und MI fallen gemischt aus. In einigen Studien zeigte sich eine stärkere Korrelation der TFD zu einer Lymphknotenbeteiligung, einem rezidivfreien Überleben sowie zur Mortalität^[33, 120, 183]. In einer anderen Studien wurde die prognostische Aussagekraft von TFD, DOI und MI in einer multivariaten Analyse verglichen. Hier zeigte DOI prognostische Aussagekraft bzgl. einer Lymphknotenbeteiligung, die TFD jedoch nicht^[108]. Eine asiatische Studie aus dem Jahr 2015 kam ebenfalls zu dem Schluss, dass die Bestimmung der Myometriuminvasion in Hinblick auf mögliche Lymphknotenmetastasen einen besseren Voraussagewert besitzt. Die TFD wiederum scheint für die Risikoeinschätzung einer Adnexbeteiligung besser geeignet. In dieser Studie hatte die TFD eine prädikti-

ve Aussagekraft bzgl. des Gratings, der LVSI, und der Zervix- sowie Adnexe-beteiligung gezeigt^[150].

Die prognostische Bedeutung von Gefäß- und Lymphgefäßinvasion

Wie bei vielen anderen Tumorentitäten, zeigte sich auch beim Endometriumkarzinom, dass die Invasion von Tumorzellen in den Gefäßraum (vascular space) als früher Schritt in der Metastasenbildung und als Prädiktor für einen Nodalbefall und krebssassoziierten Tod gesehen werden kann.

In einer weiteren Studie von 2004 konnte in einer multivariaten Analyse die voneinander unabhängige prognostische Bedeutung einer Gefäß- und Lymphgefäßinvasion festgestellt werden. In den untersuchten Tumoren fiel auf, dass eine Lymphgefäßinvasion im Vergleich zur Blutgefäßinvasion deutlich häufiger war (31 % vs. 18 %). Die Lymphgefäßinvasion war mit verschiedenen histopathologischen Faktoren, die zu einem aggressiveren Phänotyp führen, assoziiert. Hierzu zählte ein stärkeres Tumorwachstum mit einem diffus invasiven Wachstumsmuster und eine vermehrte Tumornekrose^[131].

Eine Studie aus dem Jahre 2017 konnte sogar eine Assoziation zwischen einer Lymphgefäßinvasion und einem fortgeschrittenen Tumorstadium, G3-Tumoren und tiefer Myoinvasion feststellen. Die Lymphgefäßinvasion korrelierte signifikant mit dem Auftreten lokaler Lymphknotenmetastasen. Zusätzlich war ein L1-Status mit dem vermehrten Auftreten von Fernmetastasen vergesellschaftet und stellte auch hier einen unabhängigen Prognosefaktor dar^[219]. Es wurde festgestellt, dass es sich bei der Invasion des Lymphgefäßraums (lymphovascular space invasion = LVSI) um einen aussagekräftigen Prognosefaktor für die Entwicklung eines Rezidivs handelt, der besonders bei der Therapieentscheidung bzgl. einer systemischen Therapie herangezogen werden sollte und anderen Risikofaktoren sogar überlegen sein könnte^[28, 223].

Die prognostische Bedeutung von Lymphknotenmetastasen

Sind bei einem Endometriumkarzinom die pelvinen und/oder paraaortalen Lymphknoten betroffen, wird es nach FIGO in das Stadium IIIC eingeteilt. Laut Studien beträgt die Wahrscheinlichkeit für einen Befall der pelvinen Lymphknoten bei einem FIGO I-Stadium 10 %, wohingegen die Wahrscheinlichkeit bei Tumorstadium II bereits 35 % beträgt. Ein Drittel der Patientinnen mit positiven pelvinen Lymphknoten weisen auch positive paraaortale Lymphknoten auf. Die Prognose der Patientinnen mit befallenen pelvinen Lymphknoten scheint im Vergleich zu Patientinnen mit befallenen paraaortalen Lymphknoten besser. In einer Studie wurde gezeigt, dass nur 36 % der Patientinnen mit positiven paraaortalen Lymphknoten über einen Zeitraum von fünf Jahren tumorfrei waren. Bei Patientinnen ohne Befall der paraaortalen Lymphknoten waren es hingegen 85 %^[138]. Lewis et al. stellten fest, dass die Inzidenz von Lymphknotenmetastasen positiv mit einer geringen histologischen Differenzierung, sowie der Eindringtiefe des Tumors ins Myometrium korreliert^[116].

Die prognostische Bedeutung von Diabetes mellitus

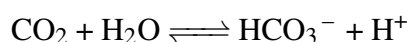
In epidemiologischen Studien zeigte sich, dass eine Erkrankung mit Diabetes mellitus und auch hohe Blutglukosekonzentrationen Risikofaktoren für die Entwicklung eines Endometriumkarzinoms darstellen. Teilweise wurde sogar ein Einfluss von Diabetes mellitus auf das Überleben der Patientinnen beobachtet^[5, 34, 62, 167, 222, 224]. Im Vergleich zu gesunden hatten erkrankte Patientinnen ein geringeres Gesamtüberleben sowie ein höheres Risiko für einen krebsbedingten Tod^[59, 96, 121, 194]. In einer Studie von Kauppila et al. wurden 1113 Patientinnen, hiervon 73 mit einem Diabetes mellitus, über einen Zeitraum von fünf Jahren beobachtet. Das Überleben der Patientinnen im Tumorstadium FIGO I mit Diabetes mellitus war mit 64 % deutlich geringer als das Überleben der Patientinnen ohne Diabetes mellitus (85 %)^[96]. Möglicherweise ist dies dem Einfluss von Hyperglykämie und Hyperinsulinämie auf die Endometriumkarzinomzellen geschuldet. In epide-

miologischen Studien konnte festgestellt werden, dass Diabetes mellitus und eine hohe Blutglukosekonzentration Risikofaktoren für die Entwicklung eines Endometriumkarzinoms darstellen^[5, 34, 62, 167, 222, 224]. Bei in-Vitro Versuchen zeigten sich Hinweise auf den Einfluss von Insulin auf das Wachstum und die Entwicklung von Endometriumkarzinomzellen. Man fand heraus, dass sie eine hohe Bindungsaffinität gegenüber Insulin besitzen und nach einer Insulinexposition proliferieren^[142]. In einer Metaanalyse aus dem Jahr 2017 wurde der Effekt von Metformin auf das Überleben von Patientinnen mit Endometriumkarzinom untersucht. Bei mit Metformin behandelten Patientinnen war die Gesamtsterblichkeit im Verhältnis zu einer Vergleichsgruppe geringer. Die Autoren vermuten daher, dass eine normoglykämie Stoffwechsellage das Outcome der Patientinnen verbessert^[160]. Im Gegensatz dazu fand Wagenius keinen Einfluss von Diabetes mellitus auf das Überleben von Patientinnen im Tumorstadium FIGO I und II^[218]. Einige Autoren weisen zudem darauf hin, dass in vielen Studien keine ausreichende Trennschärfe gegenüber einer durch Fettleibigkeit ausgelösten Risikoerhöhung besteht^[129].

2.3 Carboanhydrase IX

2.3.1 Die Familie der Carboanhydrasen

Die Carboanhydrasen bilden eine heterogene Gruppe von Zink-Metalloenzymen und kommen praktisch in jedem lebenden Organismus vor. Sie katalysieren die reversible Reaktion von Kohlenstoffdioxid und Wasser zu Kohlensäure, welche in wässriger Lösung zu Hydrogenkarbonat und einem Proton dissoziiert (siehe Abb. 2.3, S. 34).



Carboanhydrasen sind an einer Vielzahl physiologischer und biochemischer Prozesse beteiligt^[164]. Die eigentliche katalytische Aktivität des Enzyms wird durch den im aktiven Zentrum gebundenen Kofaktor Zink bedingt, der an drei Histidinreste gebunden ist. Die vierte Koordinationsstelle ist von einem Hydroxid-Liganden besetzt^[189].

In der Klasse der Säugetiere (α -CAs) existieren mindestens 14 verschiedene Isoformen der Carboanhydrase. Man unterscheidet unter ihnen elf katalytisch aktive von drei inaktiven Formen, wobei Carboanhydrase II die größte katalytische Aktivität besitzt. Auch hinsichtlich der zellulären Lokalisation lassen sich die Carboanhydrasen einteilen. Hier unterscheidet man zwischen der zytosolischen-, der mitochondrialen-, der membrangebundenen- und der sezernierten Form^[164].

Carboanhydrasen zeigen eine gewebsspezifische Verteilung. Sie sind maßgeblich am Ionentransport und der pH-Regulation beteiligt. Eine wesentliche Rolle spielen sie bei der Atmung, bei der sie am Kohlenstoffdioxidtransport in den Erythrozyten und an der Kohlenstoffdioxidabgabe durch die Lunge beteiligt sind. Im Säure-Base Haushalt der Niere erfüllen Carboanhydrasen eine weitere wichtige Funktion, indem durch die Rückresorption von Hydrogencarbonat aus dem Primärharn eine Azidose verhindert wird. Des Weiteren spielen sie eine Rolle bei der Knochenresorption sowie der Produktion von Körperflüssigkeiten, wie der Cerebrospinalflüssigkeit, der Magensäure, des Pankreassekrets und der Kammerwasserproduktion des Auges^[189]. Eine abnorme Menge oder Aktivität der Carboanhydrasen wurde bei verschiedenen Krankheitsbildern wie der Osteoporose, dem Glaukom und auch bei neurologischen Erkrankungen beobachtet^[157].

2.3.2 Carboanhydrase IX: Vorkommen und Funktion

Carboanhydrase IX ist eine membrangebundene Isoform aus der Familie der α -Carboanhydrasen^[49]. Sie gehört neben CA II zu den katalytisch aktivsten Formen der menschlichen Carboanhydrasen^[225].

CA IX besteht aus einer N-terminalen Proteoglykan-ähnlichen Domäne, einer katalytisch aktiven CA-Domäne, einer transmembranen Region und einem kleinen intrazytoplasmatischen Anteil am C-Terminus. Die Proteoglykan-ähnliche Domäne kommt innerhalb der Familie der Carboanhydrasen ausschließlich bei CA IX vor und scheint eine Rolle bei der Zelladhäsion zu spielen^[79]. Nach derzeitigem Kenntnisstand ist der zytoplasmatische Anteil von CA IX an der Steuerung der katalytischen Aktivität des Enzyms beteiligt. Unter nicht reduzierten Bedingungen lagert sich CA IX zu Homotrimeren zusammen, welche durch intramolekulare Disulfidbindungen stabilisiert werden^[157]. Erstmals wurde CA IX 1992, damals noch als Membranantigen „MN“ bezeichnet, in humanen Krebszellen einer Hela-Zelllinie (Epithelzellen eines Zervixkarzinoms) identifiziert^[159]. Man fand heraus, dass MN in diversen Tumor-Zelllinien, nicht jedoch im zugehörigen gesunden Gewebe zu finden war^[237]. Bereits damals wurde die Möglichkeit das Protein als diagnostischen Biomarker bei Krebserkrankungen zu nutzen, in Erwägung gezogen^[118]. Da es sich um die neunte in Säugetieren entdeckte Carboanhydrase handelte, wurde sie später in Carboanhydrase IX umbenannt^[152]. Unabhängig davon entdeckte man ein mit dem Nierenzellkarzinom-assoziiertes Antigen, welches sich als identisch mit CA IX herausstellte (siehe Kap. 2.3.3.1, S. 37)^[73, 148].

In erster Linie kommt CA IX in einer Vielzahl von malignen Tumoren vor. In der Regel handelt es sich hierbei um (physiologischerweise) CA IX negative Organe, darunter Niere, Gebärmutterhals, Eierstock, Lunge, Vulva, Brust und Speiseröhre^[158]. In geringerem Ausmaß kommt CA IX jedoch auch physiologisch in der Mukosa einiger Organe des menschlichen Verdauungstraktes vor. Besonders ausgeprägt ist das Vorkommen in den Drüsenzellen der Magenschleimhaut. Des Weiteren kommt CA IX im Epithel von Ileum, Dickdarm, Leber, Gallenblase sowie der Bauchspeicheldrüse vor und ist hier an Vorgängen wie der interzellulären Kommunikation, der Instandhaltung der Gewebsintegrität und dem Ionentransport beteiligt^[154].

Neben der oben beschriebenen membrangebundenen Form existiert eine weitere, gelöste Form. Sie besteht aus der proteolytisch freigesetzten extrazellulären Domäne (ECD) der

membrangebundenen Form. Dieser extrazelluläre Anteil besteht aus der Proteoglykan-ähnlichen Domäne und der katalytischen CA-Domäne. Die lösliche Form der CA IX (s-CA IX) wurde in Körperflüssigkeiten von Tumorpatienten beobachtet. Zavada et al. untersuchten s-CA IX im Serum und Urin von Patienten mit Nierenzellkarzinom. Im Vergleich zum Tumorgewebe waren die Konzentrationen von CA IX im Serum und Urin deutlich geringer und zeigten eine starke Varianz und große Spannweite. Man stellte jedoch fest, dass sich s-CA IX innerhalb weniger Tage nach der Entfernung des Tumors, in diesem Fall durch Nephrektomie, nicht mehr im Serum nachweisen ließ^[238]. Eine andere Studie konnte zeigen, dass die Konzentration von s-CA IX im Serum von Patienten mit metastasiertem Nierenzellkarzinom höher war als bei Patienten mit lokaler Tumorausbreitung. Des Weiteren war die Rezidivrate von Patienten mit höheren s-CA IX-Konzentrationen signifikant höher als die von Patienten mit geringen s-CA IX-Konzentrationen^[117].

CA IX als Hypoxiemarker

Aufgrund ihrer irregulären Gefäßneubildungen mit geringem Blutfluss entwickeln solide Tumore häufig hypoxische Areale^[77]. Peter Vaupel und seine Kollegen zeigten, dass ein geringer Sauerstoffpartialdruck in Tumoren verschiedener Entitäten mit einer erhöhten Metastasierungstendenz und schlechterem Überleben assoziiert war^[80, 81]. Auch das Ansprechen auf eine onkologische Therapie kann durch Hypoxie negativ beeinflusst werden. So ist z.B. die Radiosensitivität bei einer Strahlentherapie eines Tumors mit einem Sauerstoffpartialdruck von weniger als 25-30 mmHg stark herabgesetzt. Bei der medikamentösen Krebstherapie mit diversen Chemotherapeutika oder Zytokinen konnte ebenfalls eine sauerstoffabhängige Wirkung beobachtet werden^[81].

Um hypoxische Bedingungen zu Überleben und sogar unter ihnen zu proliferieren zu können, haben Krebszellen diverse Anpassungsmechanismen entwickelt. Unter anderem kommt es zu Wachstumsfaktor vermittelten Gefäßneubildungen sowie zu einer vermehrten Erythropoetin-bildung^[46, 77].

Im Stoffwechsel der Krebszellen findet eine Umstellung von aeroben auf anaerobe Stoffwechselvorgänge statt. Bei der anaeroben Glykolyse entsteht Laktat, welches zur Ansäuerung des extrazellulären Milieus führt. Neben Laktat produzieren Tumorzellen einen Überschuss an Protonen und Kohlenstoffdioxid. Dieser muss abtransportiert werden um den neutralen intrazellulären pH-Wert nicht zu stören^[158]. Carboanhydrase IX spielt bei dieser pH-Regulation eine wichtige Rolle und wird daher bei Hypoxie aktiviert (siehe Abb. 2.3)^[158].

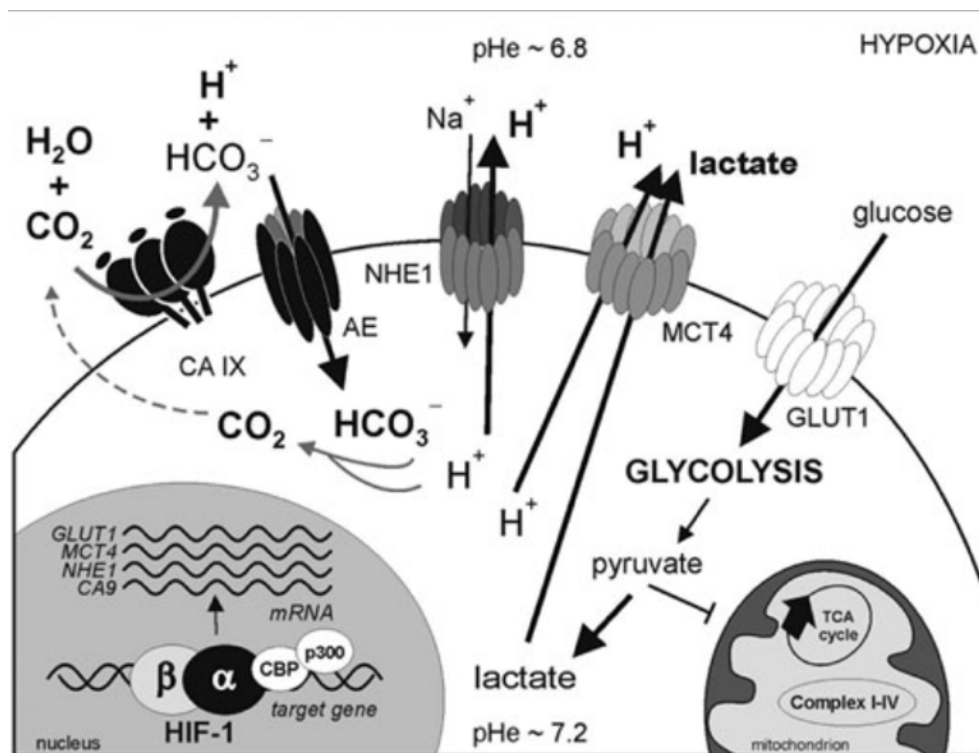


Abbildung 2.3: CA IX katalysiert die Hydratation von perizellulärem Kohlenstoffdioxid. Die entstandenen Bicarbonat-Ionen gelangen mit Hilfe von Transportmolekülen nach intrazellulär. Dies führt zu einer Neutralisation des Intrazellulärraumes, welche für das Überleben von Tumorzellen entscheidend ist. Neben Bicarbonat-Ionen entstehen bei der Hydratation von CO₂ auch Protonen. Sie verbleiben extrazellulär und führen hier zu einer weiteren Ansäuerung^[49].

Der erniedrigte pH-Wert führt über verschiedene Mechanismen, u.a. durch die Hochregulierung angiogenetischer Faktoren zu einem invasiveren Tumorwachstum mit erhöh-

ter Metastasierungstendenz. Auch das Ansprechen auf eine konventionelle Krebstherapie kann durch den pH-Wert beeinflusst werden^[157]. Die CA IX-Expression ist daher nicht nur als Überlebens- und Progressions-Mechanismus von Tumorzellen zu betrachten, sondern könnte auch ein Biomarker für Hypoxie und ein damit einhergehendes aggressives Tumorwachstum sein. Es wäre also auch ein prognostischer Wert von CA IX denkbar^[164]. Verschiedene Studien konnten den Zusammenhang zwischen Tumorphypoxie und starker CA IX-Expression bereits zeigen (Tab. 2.2). Passend dazu konnte beobachtet werden, dass CA IX besonders in perinekrotischem Tumorgewebe exprimiert wird^[17, 231].

CA IX-Expression in verschiedenen Tumorentitäten		
Tumorentität	Korrelation von CA IX mit...	Literatur
Mamma- & Bronchi- alkarzinom	• schlechte Tumordifferenzierung • Tumornekrose • schlechteres Therapie-Outcome • schlechtere Prognose	Brennan et al., 2006, Wykoff et al., 2001, Chia et al., 2001, Generali et al., 2006, Hussain et al., 2007, Konno et al., 2006
Kopf-Hals-Tumoren	• Tumornekrose • fortgeschrittenes Tumorstadium • schlechteres Therapie-Outcome	Beasley et al., 2001, Le, 2007
Hirntumoren	• schlechtere Differenzierung • schlechteres Gesamtüberleben	Harpasalo et al., 2006, Korkolopoulou et al., 2007
Ösophagus- & Ma- genkarzinom	• schlechtere Prognose	Chen et al., 2005, Driessen et al., 2006
Primäres Zervixkarzi- nom	• Metastasierungsrate	Kim et al., 2006, Pastorekova et al., 2008b

Tabelle 2.2: Korrelation klinischer und pathologischer Faktoren mit erhöhter CA IX-Expression in verschiedenen Tumorentitäten (Beasley et al., 2001, Wykoff et al., 2000).

Die Rolle von CA IX in der Zellinteraktion

Neben seiner Funktion in der pH-Regulation spielt CA IX eine wichtige Rolle in der Zelladhäsion und Zellkommunikation. Zavada et. al zeigte, dass die Proteoglykan-ähnliche PG-Domäne am N-Terminus an der Zelladhäsion beteiligt ist^[236].

Auch in der Zell-zu-Zell-Adhäsion scheint CA IX involviert zu sein. CA IX ist in der Lage Verbindungen zwischen E-Cadherin, einem Schlüsseladhäsionsmolekül, und dem Zytoskelett zu destabilisieren. Der dazu führende Mechanismus ist eine direkte Interaktion zwischen CA IX und Beta-Catenin^[203]. Dieser Vorgang könnte Teil einer Erklärung sein, wie Hypoxie Tumordinvasion bzw. Metastasierung initiiert^[18, 157].

2.3.3 CA IX als Ansatzpunkt in der Tumorthherapie

Es gibt bislang drei verschiedene Ansatzpunkte CA IX in der Krebstherapie zu nutzen.

1. Einerseits wäre eine Art Immuntherapie mit CA IX als direkten Angriffspunkt vorstellbar. Die enge Assoziation von CA IX mit malignen Tumoren und das nur in geringem Maße physiologische Vorkommen könnten hier genutzt werden.
2. Der zweite Ansatzpunkt bezieht sich auf die katalytische Aktivität von CA IX und deren Rolle bei der pH-Regulation.
3. Als drittes bietet die Entwicklung von Nano-Objekten (Nanopartikeln), die mit CA IX Inhibitoren derivatisiert sind eine interessante Perspektive^[202].

2.3.3.1 Antikörper gegen CA IX in der Krebstherapie

Eine Vielzahl von präklinischen und klinischen Studien führte zur Entwicklung eines monoklonalen CA IX spezifischen Antikörpers. Oosterwijk und Kollegen entwickelten einen monoklonalen Antikörper G250 gegen ein Nierenzellkarzinom-assoziiertes G250 Antigen. Später stellte sich heraus, dass es identisch mit CA IX war^[73, 148]. Zwischenzeitlich wird Girentuximab, ein chimärer monoklonaler Antikörper von der Firma Wilex AG (München, Deutschland) unter dem Handelsnamen RENCAREX[®] produziert. Er fand in Phase III-Studien bei Patienten mit nicht metastasiertem klarzelligen Nierenzellkarzinom Anwendung. Der Antikörper vermittelt seine Wirkung über eine Antikörpervermittelte zelluläre Toxizität (ADCC = antibody-dependent cell cytotoxicity). Darunter versteht man die Aktivierung von natürlichen Killerzellen und anderen Effektorzellen bei Bindung des Antikörpers an CA IX. RENCAREX[®] zeigte sich als sicher und gut verträglich. Jedoch zeigte die endgültige Auswertung der ARISER Studie (Adjuvant Rencarex Immunotherapy Phase 3 Trial to Study Efficacy in Nonmetastatic RCC) keinen Vorteil im krankheitsfreien und Gesamtüberleben^[32].

2.3.3.2 Carboanhydraseinhibitoren in der Krebstherapie

Die relevante Rolle von CA IX beim Überleben von hypoxischen Tumorzellen verdeutlichten Barathova et. al, die zeigten, dass eine durch Spleißen veränderte Form von CA IX (AS = alternatively spliced), der das C-terminale Ende der katalytischen Domäne fehlt, eine deutlich reduzierte katalytische Aktivität besitzt. Wird diese AS-Form überexprimiert, so wird die katalytische Aktivität der normal langen CA IX (FL = full-length) herabgesetzt. Bei der Zugabe der gespleißten CA IX-Variante zu HeLa-Zellen konnte beobachtet werden, dass die Zellen unter diesen Bedingungen nicht in der Lage waren sich hypoxischem Stress anzupassen^[15, 157].

Carboanhydraseinhibitoren sind kleine Moleküle mit der Fähigkeit die katalytische Aktivität der Carboanhydrase zu hemmen. Man kann eine Einteilung in zwei Hauptgruppen vornehmen: einerseits Inhibitoren, die mit dem Zinkion im aktiven Zentrum der Carboanhydrase interagieren (Sulfonamide, Sulfamate, Sulfamide, Dithiocarbamate, Xanthogenat, anorganische Anionen) und eine Gruppe, bei der keine Interaktion mit dem Metallion stattfindet (Phenole, Polyamine, Cumarine)^[202].

Sulfonamide

Mit der funktionellen Inhibition von Tumor-assoziierten Carboanhydrasen mit Hilfe von Sulfonamiden bzw. ihren Derivaten befassen sich Wissenschaftler seit ca. 15 Jahren^[200, 201, 202]. Die Idee gründet auf dem antiproliferativen Effekt einiger Sulfonamidderivate in verschiedenen Tumorzelllinien. Ein Hauptproblem, welches es zu überwinden galt, bestand darin, dass Sulfonamide generell keine Selektivität gegenüber verschiedenen CA-Isoenzyme zeigen^[199, 202, 227]. Durch das Anhängen verschiedener Seitenketten und andere Modifikationen konnten die chemischen und physikalischen Eigenschaften der Sulfonamide so verändert werden, dass eine zunehmende Selektivität erreicht werden konnte^[153, 155, 157, 202, 226]. Ein weiterer Ansatz bestand darin, durch Hypoxie aktivierbare Inhibitoren zu entwickeln^[31, 157, 204].

Eines der relevantesten Ergebnisse bei der Entwicklung von Sulfonamiden für die zielgerichtete CA IX-Therapie konnten Supuran und Kollegen im Jahre 2011 vorweisen. Sie zeigten einen antimetastatischen Effekt eines Sulfonamidderivates (Ureido-substituiertes Benzenesulfonamid) an einem Brustkrebs-Xenograft-Modell^[125, 151, 202].

In anderen Studien konnte festgestellt werden, dass Carboanhydraseinhibitoren unter bestimmten Bedingungen in der Lage sind, Effekte einer konventionellen Krebstherapie zu verstärken. Es konnte beispielsweise eine Sensitivierung von Tumoren für eine Radiotherapie sowie eine Doxorubicin-basierte Chemotherapie beobachtet werden^[50, 202].

Neri und seine Forschungsgruppe verfolgten einen „Zwei-Medikamente-Ansatz“ („dual-

drug approach“). Hierbei wird ein Acetazolamidderivat mit einem zytotoxischen Stoff konjugiert und fungiert somit als eine Art Transportmolekül. Basierend auf dieser Technik konnte unter anderem eine Abnahme des Tumorwachstums bei Nierenzellkarzinomen gezeigt werden^[111, 202].

Cumarin-Derivate

Die zweite Klasse von Carboanhydraseinhibitoren, die bereits präklinische Studien erreichen konnte, sind glykosylierte Cumarine (7-glycosyl coumarin inhibitors). Hier konnte eine besonders selektive Inhibition von CA IX und CA XII beschrieben werden. Ähnlich wie bei den Sulfonamiden zeigten Studien auch hier beispielsweise im Mausversuch mit hoch aggressiven Brustkrebszellen eine Reduktion der Tumormasse um 37 %^[202, 214]. Auch eine geringere Metastasenbildung sowie eine herabgesetzte Kolonisation von Tumorzellen in der Lunge konnten in diesem Mausmodell beobachtet werden^[125, 202].

Nanopartikel

Im Jahre 2008 begann die Forschungsgruppe um Supuran mit der Entwicklung von Goldpartikeln zur Umhüllung von Sulfonamidderivaten, in diesem Fall Benzensulfonamid. In ex vivo Versuchen zeigte sich, dass die umhüllten Carboanhydraseinhibitoren komplett membranundurchdringlich und dadurch hoch selektiv bzgl. CA IX waren^[195, 202].

2.4 Carboanhydrase in gynäkologischen Tumoren

Betrachtet man Forschungsergebnisse für andere gynäkologische Tumorerkrankungen fallen die Resultate gemischt aus.

2.4.1 Vulvakarzinom

Eine Forschungsgruppe des Instituts für Gynäkologie des Universitätsklinikums Hamburg Eppendorf untersuchte die CA IX-Expression verschiedener Tumorentitäten. Eine Studie zum Vulvakarzinom zeigte eine erhöhte CA IX-Expression im Tumorgewebe im Vergleich zu gesundem Gewebe. Es konnte ebenfalls eine Assoziation zwischen intratumoraler CA IX-Expression und fortgeschrittenem Tumorstadium, Tumorgroße, Invasionstiefe und inguinalen Lymphknotenmetastasen festgestellt werden^[37]. In einer weiteren Studie war eine hohe CA IX-Serumkonzentration mit einer hohen intratumoralen Konzentration von CA IX assoziiert. Weiterhin gingen hohe präoperative CA IX-Serumwerte mit einer ungünstigeren Prognose einher. In diesem Zusammenhang wäre es denkbar die CA IX-Konzentration im Serum bei der Entscheidungsfindung bzgl. einer möglichen adjuvanten Therapie hinzuzuziehen^[106].

2.4.2 Ovarialkarzinom

Im Ovarialkarzinom zeigten Studien ebenfalls eine im Vergleich zum gesunden Gewebe erhöhte CA IX-Expression. Choschzick et al. stellten fest, dass die CA IX-Überexpression im Tumorgewebe als unabhängiger prognostischer Marker für das Ovarialkarzinom dienen kann. Es wäre in der Zukunft vorstellbar, dass CA IX in diesem Zusammenhang

eine Rolle in Diagnostik und Therapie spielen könnte. Eine Untersuchung der CA IX-Konzentrationen im Serum während einer first-line Therapie zeigte jedoch keine signifikanten Konzentrationsveränderungen im Verlauf der Therapie. Demnach scheint die Bestimmung der CA IX-Konzentration im Serum im Rahmen eines Therapiemonitorings nicht sinnvoll^[36, 87, 228].

2.4.3 Zervixkarzinom

Bezüglich des Zervixkarzinoms zeigte Liao et al. einen Zusammenhang zwischen Tumorgröße bzw. Invasionstiefe des Tumors und intratumoraler CA IX-Expression. Des Weiteren zeigte sich in dieser Studie die CA IX-Expression als unabhängiger prognostischer Faktor bzgl. PFS (progression free survival) und OAS (overall survival)^[119]. In einer Studie von Lancaster et al. wurde festgestellt, dass die Tumor-assoziierte Carboanhydrase IX mit dem Hypoxielevel des Tumors korreliert. Weiterhin konnte auch hier festgestellt werden, dass es sich bei der intratumoralen CA IX-Konzentration um einen signifikanten und unabhängigen prognostischen Faktor für Overall Survival und Metastasen-freies Überleben nach einer Radiotherapie handelt. Mit Hilfe der CA IX-Bestimmung wäre es möglich Patientinnen, die von einer Therapie profitieren, welche besonders auf die hypoxischen Bedingungen abzielt, zu erkennen^[124]. Kim et al. kam zu dem Schluss, dass die CA IX-Expression als Indikator für die Identifizierung von Patientinnen, die eine aggressivere systemische Therapie benötigen, genutzt werden könnte. Er stellte eine Assoziation zwischen CA IX-Konzentration im Tumor und erhöhter Metastasierungstendenz fest^[102]. Auch in einer Studie von Woelber et al. konnte ein Zusammenhang zwischen intratumoraler CA IX-Expression und Lymphknotenmetastasen sowie fortgeschrittenem Tumorstadium gezeigt werden^[229].

2.4.4 Mammakarzinom

Studien zum Mammakarzinom zeigten, dass eine hohe CA IX-Konzentration mit schlechterem Überleben (DFS, Overall Survival) vergesellschaftet war^[66, 85]. In einer Studie von Hussain et al. war CA IX ein signifikanter unabhängiger Prognosefaktor für das Überleben^[85]. Im Jahre 2016 beschrieb eine Studie den hemmenden Effekt eines Benzonsulfonamids (VD1142) auf die katalytische Aktivität von Carboanhydrase IX in Brustkrebszellen. Dieser Umstand könnte ggfs. im Rahmen einer gezielten Krebstherapie eingesetzt werden^[97]. Eine Studie von Ivanova et al. zeigte eine Assoziation zwischen CA IX mRNA und schlechterem Überleben besonders bei Patientinnen mit triple negativen Tumoren. Des Weiteren konnte die Studie belegen, dass die Behandlung mit einem Carboanhydraseinhibitor die Selbsterneuerungskapazität der Krebszellen reduziert und synergistisch mit einer Chemotherapie mit Doxorubicin wirkt^[89, 90].

2.5 Carboanhydrase IX im Endometriumkarzinom

Die Expression von CA IX im Endometriumkarzinom und deren Bedeutung ist bisher kaum untersucht worden. Dennoch existieren einige wenige Studien zu diesem Thema^[83] [86, 161, 175]. Hynninen et al. nutzte in einer Studie aus dem Jahre 2012 die CA IX-Expression bei der differentialdiagnostischen Unterscheidung zwischen Leiomyom und Leiomyosarkom. Es wurde festgestellt, dass die CA IX-Expression im Sarkom deutlich erhöht war, während im Leiomyom fast keine CA IX-Expression nachweisbar war.

Eine Studie aus dem Jahr 2014 untersuchte den Zusammenhang zwischen der CA IX-Expression und der Aufnahme radioaktiv markierter Fluordesoxyglukose (FDG) als Zeichen eines gesteigerten Glukosemetabolismus in den Tumorzellen bei Patientinnen mit Endometriumkarzinom. Es konnte hier allerdings kein Zusammenhang festgestellt werden^[92].

Horree et al. untersuchte einige mit Zellproliferation und Hypoxie assoziierte Proteine, darunter auch CA IX, hinsichtlich der Frage, ob es einen Unterschied zwischen der Proteinexpression im Tumorrinneren im Vergleich zu der sogenannten Invasionsfront gibt. Auch hier konnte kein Unterschied in der CA IX-Expression festgestellt werden ^[83].

Eine Studie von Yunokawa et al. untersuchte die CA IX-Expression im Endometriumgewebe von Patientinnen mit atypischer Endometriumhyperplasie und Endometriumkarzinom im Vergleich zu gesundem Endometriumgewebe^[232].

Wissenschaftliche Arbeiten, die sich mit der prognostischen Bedeutung von CA IX im Endometriumkarzinom befassen, sind bisher rar. Pijnenborg et al. untersuchten die Expression von CA IX im Primärtumor bei Patientinnen, die ein Rezidiv entwickelten im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ohne Rezidiv^[161]. Sadlecki et al. korrelierten die CA IX-Expression im Primärtumor mit verschiedenen histopathologischen Parametern sowie der Überlebenszeit bei Patientinnen mit Endometriumkarzinom^[175].

Gegenstand dieser Studie sind daher Prognosefaktoren beim Endometriumkarzinom sowie die prognostische Bedeutung der CA IX-Expression im Tumorgewebe und Serum von Patientinnen mit primärem Endometriumkarzinom.

3 Material und Methodik

3.1 Material

3.1.1 Zusammenstellung des Patientenkollektivs

Die Zusammenstellung des Studienkollektivs fand in Kooperation mit dem Institut für Pathologie am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf statt. Hier wurden die gynäkologischen Befunde der vergangenen Jahre (1994 bis 2011) gesichtet und geeignete Fälle ausfindig gemacht. Aufnahmekriterium war der histologische Befund eines Endometriumkarzinoms. Sarkome der Gebärmutter wurden bei dieser Studie ausgeschlossen. Nach Anfertigung der Gewebeschnitte erfolgte die immunhistochemische Färbung (siehe Kap. 3.2.1, S. 51).

Des Weiteren waren durch die Zusammenarbeit mit dem gynäkologischen Forschungslabor 46 präoperativ gewonnene Serumproben von Patientinnen aus dem Kollektiv verfügbar. Hier erfolgte die Ermittlung der löslichen Molekülkonzentration von s-CA IX mittels Enzym-linked Immunosorbent Assay (ELISA) (siehe Kap. 3.2.2, S. 55).

Das Patientenkollektiv umfasst 272 Patientinnen, die im Zeitraum zwischen 1994 und 2011 aufgrund eines primären Endometriumkarzinoms operiert wurden. 187 davon wurden an der Klinik und Poliklinik für Gynäkologie des Universitätsklinikums Hamburg-

Eppendorf behandelt, 85 an der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe des Albertinen-Krankenhauses Hamburg. Die unterschiedlichen Kliniken ergeben sich aufgrund der Funktion des Instituts für Pathologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf als Referenzzentrum für Gynäkologie.

Die histopathologischen Parameter, wie Tumorgroße, Tumorstadium, histologischer Tumortyp und Differenzierungsgrad, Angio- und Lymphangioinvasion, Lymphknotenbefall, sowie der Resektionsstatus wurden dem pathologischen Befund entnommen. Die klinischen Informationen stammen aus den Patientenakten.

Zur Beobachtung des postoperativen Krankheitsverlaufes wurden die Patientinnen bzw. im Todesfall deren nächste Angehörige telefonisch kontaktiert. In Fällen, in denen keine persönliche Kontaktaufnahme möglich war, wurden Informationen über die weiterbehandelnden Gynäkologinnen/Gynäkologen und das Hamburger Krebsregister gesammelt. Die Zeitspanne dieser Follow-Up-Daten erstreckt sich vom Tag der Operation bis zum Todeszeitpunkt, respektive Zeitpunkt des letzten Patientenkontaktes.

Die Einwilligung zur wissenschaftlichen Untersuchung des Tumorgewebes sowie der patientenbezogenen Daten wurde von den Erkrankten, nach erfolgter Aufklärung vor der Operation oder während der Follow-Up-Periode, eingeholt. Es lag ein positives Ethikvotum vor. Zudem wurde die Studie gemäß den Prinzipien der Deklaration von Helsinki und den REMARK-Kriterien gestaltet^[10]. Alle Daten wurden vor der Auswertung anonymisiert.

3.1.2 Material für die Immunhistochemie

Für die immunhistochemische Untersuchung der Carboanhydrase IX wurde ein kommerzieller Kit (CA IX IHC Kit, No. CAIXOS) der Firma Siemens Healthcare Diagnostics Inc. (Tarrytown/USA) verwendet. Nachfolgend sind die im Kit enthaltenen Reagenzien sowie Verbrauchsmaterialien und benötigte Geräte aufgeführt. Der theoretische Hinter-

grund und die Durchführung sind dem Kapitel 3.2.1 (S. 51) zu entnehmen.

Reagenzien (in Kit enthalten):

- Peroxidase Blocker (CA IX IHC Kit, Reagenz A)
Ready-to-use *(Siemens, No. CAIXOS)*
- Muriner Anti CA IX Antikörper (gelöst auf 0,5 µg/ml) (CAIX IHC Kit, Reagenz B)
Ready-to-use *(Siemens, No. CAIXOS)*
- Biotinylierter Ziegen Anti-Maus IgG Antikörper (CAIX IHC Kit, Reagenz C)
Ready-to-use *(Siemens, No. CAIXOS)*
- HRP Streptavidin (CAIX IHC Kit, Reagenz D)
Ready-to-use *(Siemens, No. CAIXOS)*
- Maus IgG Negativ Kontrolle (CA IX IHC Kit, Reagenz E)
Ready-to-use *(Siemens, No. CAIXOS)*
- DAB Substrat-Chromogen Lösung (CAIX IHC Kit)
 - 1 Tropfen DAB Substrat Puffer (Reagenz F1) *(Siemens, No. CAIXOS)*
 - 1 Tropfen DAB Chromogen Lösung (Reagenz F2) *(Siemens, No. CAIXOS)*
 - 1 Tropfen Wasserstoffperoxid 0,6 % (Reagenz F3) *(Siemens, No. CAIXOS)*
 - 1 ml Aqua dest.
- Mayer's Haematoxylin (CAIX IHC Kit, Reagenz G)
Ready-to-use *(Siemens, No. CAIXOS)*

- PBS Puder (CAIX IHC Kit)
1 Packung PBS Puder (Reagenz H) *(Siemens, No. CAIXOS)*
1 l Aqua dest.

Nicht im Kit enthaltene Reagenzien und Verbrauchsmaterialien:

- p-Xylen *(Fluka, No. 95685)*
- Alkoholreihe (100 %, 95 %, 80 %)
- Aqua dest.
- Entellan *(MERCK, No. 1.07961)*
- Objektträger *(Assistent/Hecht, No. 2409)*
- Deckgläser *(Marienfeld, No. 0101202)*
- Pipettenspitzen mit/ohne Filter *(Sarstedt)*
- Dako Pen *(Dako Denmark A/S, No. S2002)*
- 50 ml Plastikröhrchen *(Sarstedt)*
- Reaktionsgefäße *(Eppendorf)*

- Handschuhe *(Ansell)*

Geräte:

- Mikrotom *(Leica, No. SM 2000R)*
- Autoklav
- Wasserbad *(Leica, No. HI1210)*
- Pipetten *(Eppendorf)*
- ph-Meter *(WTW, No. 1A10-110)*
- Magnetrührer *(IKAMAG)*
- Analysewaage *(Kern)*
- Mikroskop *(Zeiss, Axioskop 40)*

3.1.3 Material für den ELISA

Der ELISA (Enzym-linked immunosorbent assay) wurde mit einem Ca IX-Reaktionskit der Firma Wilex/WILEX Inc. (Item No. 06490025) durchgeführt. Im Folgenden sind die

enthaltenen Reagenzien aufgeführt. Anschließend sind Verbrauchsmaterialien sowie die benötigten Geräte aufgelistet. Der theoretische Hintergrund und die Durchführung sind dem Kapitel 3.2.2 (S. 55) zu entnehmen.

Reagenzien:

- CA IX Standards *(Siemens, No. 06490025)*
sechs Phiolen mit jeweils 1 ml einer gereinigter CA IX Standardlösung mit unterschiedlichen Konzentrationen (0 - 1500 pg/ml)
Ready-to-use
- Sample Diluent *(Siemens, No. 06490025)*
100 ml Flasche enthält BSA (Rinderalbumin), Maus IgG, 0,09 % Natriumazid
Ready-to-use
- Detektor Antikörper *(Siemens, No. 06490025)*
12 ml Flasche enthält biotinylierten Anti-CA IX Antikörper
Ready-to-use
- Konjugat-Konzentrat *(Siemens, No. 06490025)*
0,4 ml Phiole enthält HRP-Streptavidin, zur Verdünnung mit Conjugate Diluent im Verhältnis 1:50 um Working Conjugate zu erhalten
Ready-to-use
- Conjugate Diluent *(Siemens, No. 06490025)*
12 ml Flasche enthält Pufferlösung (pH 7,0) mit BSA und 0,1 % 2-Chloracetamid, zur Verdünnung mit Conjugate Concentrate im Verhältnis von 50:1 um Working

Conjugate herzustellen

Ready-to-use

- Substrate Solution *(Siemens, No. 06490025)*
12 ml Flasche enthält TMB Substrat (Tetramethylbenzidin)
Ready-to-use
- Stop Solution *(Siemens, No. 06490025)*
100 ml Flasche enthält 2,5N H₂SO₄
Ready-to-use
- Platewash concentrate *(Siemens, No. 06490025)*
100 ml Flasche, zur Verdünnung mit Aqua dest. im Verhältnis 1:20

Verbrauchsmaterialien:

- Mikrotiterplatte (in CA IX-Kit enthalten) *(Siemens, No. 06490025)*
96-Well-Platte beschichtet mit einem monoklonalen Anti-CA IX Antikörper
- Pipettenspitzen *(Sarstedt)*
- 1,5 ml Reaktionsgefäß *(Sarstedt, No. 72.690.001)*
- Reaktionsgefäße *(Eppendorf)*

- Handschuhe *(Ansell)*
- Plastikfolie

Geräte:

- Pipetten *(Eppendorf)*
- Schüttler/Titer plate shaker *(Heidolph, Polymax 1040)*
- Spektralphotometer für ELISA *(Tecan, Sunrise)*

3.2 Methoden

3.2.1 Immunhistochemie

3.2.1.1 Grundlagen

Das Prinzip der Immunhistochemie nutzt die Spezifität und Affinität immunologischer Reaktionen zur Lokalisation von Antigenen. Im ersten Schritt wird ein sog. primärer Antikörper eingesetzt, der an ein Epitop des gesuchten Antigens bindet. Im zweiten Schritt

wird die Antigen-Antikörper-Bindungsstelle lokalisiert und durch direkte oder indirekte Methoden sichtbar gemacht. Bei der direkten Methode trägt der primäre Antikörper ein Markermolekül, welches durch bestimmte Techniken sichtbar gemacht werden kann. Handelt es sich hierbei um fluoreszierende Farbstoffe, so spricht man von Immunfluoreszenz. Bei der indirekten Methode wird an den primären Antikörper ein zweiter, markierter Antikörper gebunden, der dann sichtbar gemacht werden kann. Ist eine Verstärkung (Amplifikation) des Signals gewünscht, kann eine höhere Anzahl von Markermolekülen verwendet werden. Eine häufig genutzte Methode besteht in der Verwendung eines biotinylierten Sekundärantikörpers. Als nächstes folgt die Inkubation mit einem Avidin-Biotin-Peroxidase-Complex (ABC), der an den biotinylierten Sekundärantikörper bindet. Das Enzym kann ein zugegebenes Substrat zu einem farbigen Endprodukt umsetzen und so letztlich das Antigen sichtbar machen (Abb. 3.1, S. 53)^[24].

3.2.1.2 Durchführung

Die histologische Aufarbeitung und immunhistochemischen Färbung des Tumorgewebes erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Hamburg Eppendorf. Im Folgenden sind die einzelnen Arbeitsschritte wiedergegeben:

Gewebevorbehandlung/Gewebeaufarbeitung:

Die Gewebeproben wurden initial mit 4%-iger Formalinlösung fixiert, in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert und in Xylol inkubiert. Daraufhin erfolgte die Einbettung in Paraffin. Zur Herstellung eines Tissue Microarrays (TMA) erfolgte die Entnahme von Gewebezyllindern mit einem Durchmesser von 1,3 mm aus jeweils einem repräsentativen, nicht nekrotischen Tumoreal des Spenderblocks. Diese wurden in einen vorgebohrten Paraffinblock, den Empfängerblock, eingebracht. Anschließend wurde dieser mit einem

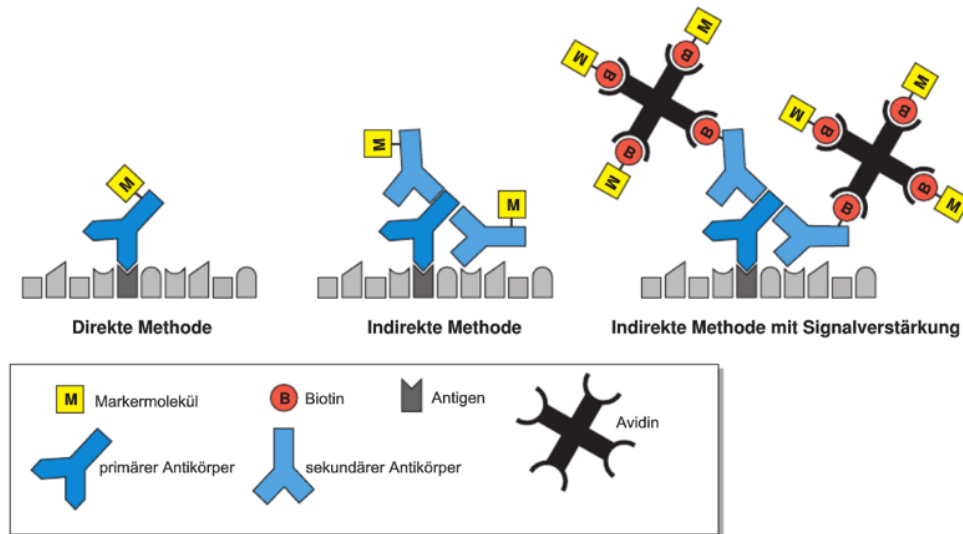


Abbildung 3.1: Spezifische Darstellung von Proteinen in Gewebe und Zellen (Immunhistologie) oder in Extrakten (Western-Blot). Für die direkte Methode trägt der Antikörper ein Markermolekül (M = Enzyme, Fluorochrome oder kolloidales Gold), das nach der Immunreaktion im Gewebe nachgewiesen werden kann (bei fluoreszierenden Farbstoffen z.B. im Auflichtmikroskop mit Farbfiltern). Bei den indirekten Methoden wird an den primären Antikörper ein zweiter Antikörper gebunden, der aufgrund seiner Markierung visualisiert werden kann. Ist eine weitere Verstärkung des Signals erforderlich, wird z.B. ein biotinylierter (B) sekundärer Antikörper verwendet, der von einem Komplex aus Avidin und einem biotinylierten Enzymmarker erkannt wird. Da eine höhere Zahl von Markermolekülen an der Reaktion beteiligt ist, wird das Signal verstärkt (Amplifikation)^[24].

Schlittenmikrotom geschnitten und die 4µm dicken Schnitte auf beschichtete Objektträger aufgebracht.

Durch die Fixierung des Gewebes mit Formalin kommt es zu einer Vernetzung der Proteine (Crosslinking)^[105]. Die Antigene sind in diesem Zustand nur eingeschränkt für Antikörper zugänglich. Die sogenannte Antigendemaskierung erfolgt durch ein als HIER (Heat Induced Epitope Retrieval) bezeichnetes Verfahren, bei dem eine thermische Vorbehandlung des Gewebes in einer Pufferlösung stattfindet. In diesem Fall erfolgte die Vorbehandlung im Autoklaven bei einem pH-Wert von 7,8.

Bei dem CA IX-Antikörper handelt es sich um einen monoklonalen murinen Antikörper (CA IX IHC Kit, Siemens Healthcare Diagnostics Inc.). Dieser liegt in einer Verdünnung von 0,5 µg/ml vor. Die Reagenzien dieses Kits liegen teils als ready-to-use Variante, teils

als Konzentrate, die einer vorherigen Verdünnung bedürfen, vor. Das Kit enthält eine Negativkontrolle. Der Versuch findet bei Raumtemperatur statt.

Vor der immunhistochemischen Färbung erfolgte die Entparaffinierung und Rehydratisierung des Gewebes in einem Xylolbad mit anschließender absteigender Alkoholreihe. Zur Blockierung der endogenen Peroxidase erfolgte eine Behandlung mit Peroxidase Blocking Solution (ready-to-use). Nun erfolgte die Zugabe des Primärantikörpers gegen CA IX bzw. die Negativkontrolle. Nach Inkubation und Spülung mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) erfolgt die Inkubation mit dem biotinylierten Sekundärantikörper (Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG Antibody). Es folgt erneutes Spülen und danach das Zupipettieren des HRP-Streptavidin-Komplexes wiederum gefolgt von einer Inkubationszeit und Spülung (s.o.). Um ein farbiges Endprodukt zu erhalten wird nun ein chromogenes Substrat (DAB) zugegeben. Hieraufhin entsteht ein braunes Präzipitat. Um die Farbreaktion zu beenden wurde das Gewebe mit Aqua dest. gespült. Als Gegenfärbung wurden die Schnitte in ein Hämatoxylin-Bad nach Mayer gestellt, um als Kontrast zur immunhistochemischen Färbung die Kerne aller Zellen darzustellen. Abschließend erfolgte die Dehydrierung mit einer aufsteigenden Alkoholreihe und Xylol sowie das Eindecken in das Eindeckmedium Entellan.

Beurteilung der Schnitte:

Die lichtmikroskopische Beurteilung aller Schnitte erfolgte durch einen Pathologen. Es wurden der histologische Tumortyp, das Grading und die CA IX-Expression betrachtet. Die Einteilung des CA IX-Expressionslevels erfolgte nach einem vierstufigen Bewertungssystem. Hierbei flossen sowohl die Färbungsintensität als auch die Anzahl der gefärbten Tumorzellen ein. Lediglich ein membranöses Färbemuster wurde als positiv gewertet. 0 = keine Reaktion/Expression (keine Färbung oder Membranfärbung, kleiner 10 % der Tumorzellen), 1 = schwache (Reaktion/Expression (partielle Membranfärbung oder schwache komplette Membranfärbung, größer 10 % der Tumorzellen), 2 = mäßige Reaktion/Expression (schwache bis moderate komplette Membranfärbung größer 10 %

der Tumorzellen), 3 = starke Reaktion/Expression (starke und komplette Membranfärbung größer 10 % der Tumorzellen). Beispielhafte Färbemuster für unterschiedliche CA IX-Expressionslevel sind in Abb. 3.2 dargestellt.

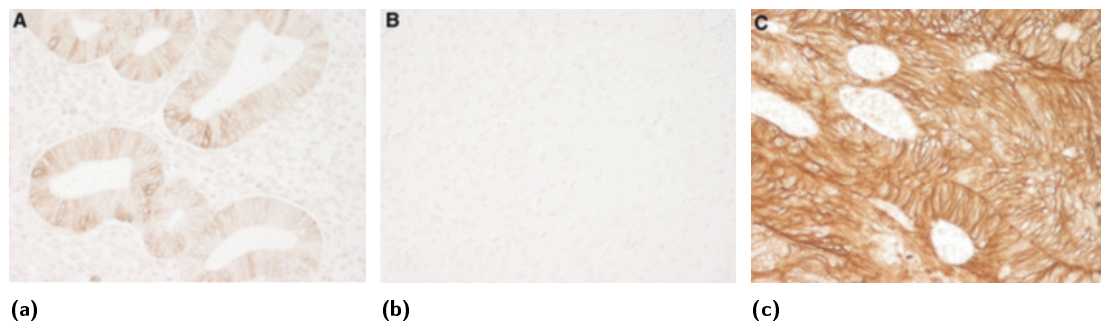


Abbildung 3.2: Immunhistochemisches Färbemuster von CA IX (nach [86]):

- (a) physiologisches Endometrium in der proliferativen Phase mit schwacher Färbung.
- (b) „Negativprobe“ ohne Färbung bei einem Myom.
- (c) Endometriumkarzinom mit starker Färbung.

3.2.2 ELISA

3.2.2.1 Grundlagen

Der ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) ist eine antikörperbasierte Methode zum Nachweis von Proteinen oder anderen Antigenen aus Körperflüssigkeiten. Hierzu ist ein spezifischer Antikörper nötig, der an das gesuchte Antigen bindet. Der Antikörper ist kovalent an ein Enzym gebunden. Ist das gesuchte Antigen in der Probe vorhanden, bindet der Antikörper-Enzym-Komplex daran. Nach Zugabe eines passenden Substrates katalysiert das Enzym die Umsetzung zu einem farbigen Produkt. Die Farbreaktion zeigt somit das Vorhandensein des gesuchten Antigens an.

Eine spezielle Form ist der sogenannte „Sandwich“-ELISA. Zunächst werden hier Antikörper gegen ein bestimmtes Antigen am Boden eines Reaktionsgefäßes immobilisiert. Als nächstes wird die zu untersuchende Probe zugegeben und eine gewisse Zeit inkubiert. Dann folgt ein zweiter, enzymgekoppelter Antikörper. Auch dieser ist spezifisch und bin-

det das gesuchte Antigen, wenn dieses in der Probe vorhanden sein sollte. Es entstehen Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplexe, die in ihrer an ein Sandwich erinnernde Anordnung namensgebend für diesen ELISA sind. Die nichtgebundenen Antikörper werden durch Waschen entfernt. Schließlich erfolgt die Zugabe des Substrates. Die Geschwindigkeit der Farbbildung verhält sich proportional zur Menge des Antigens^[22, 71]. Die Abbildung 3.3 zeigt eine schematische Illustration der beschriebenen Methode.

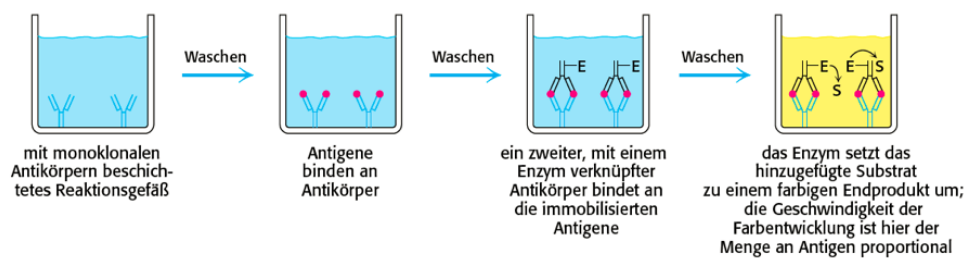


Abbildung 3.3: Prinzip eines ELISA^[22].

3.2.2.2 Durchführung

Die Durchführung des CA IX ELISAs erfolgte durch das gynäkologische Forschungslabor der Klinik und Poliklinik für Gynäkologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf. Zur Detektion der CA IX-Konzentration in Serumproben von 46 Patientinnen wurde ein ELISA Kit der Firma Wilex/WILEX Inc. (Item No. 06490025) verwendet. Hierbei handelt es sich um einen „Sandwich“-ELISA. Es fand eine Doppelbestimmung von Proben, Standard und Kontrollen statt. Anschließend wurde ein Mittelwert gebildet. Eine Abweichung von bis zu 10 % wurde geduldet. Das Experiment erfolgte bei Raumtemperatur (20 - 27 °C).

Die einzelnen Schritte wurden wie folgt durchgeführt:

Zunächst wurden die zu verwendenden Proben auf Raumtemperatur gebracht. Es folgte die Verdünnung der Serumproben und Kontrollen mit Sample Diluent im Verhältnis 1:2. Die Standard-Lösung bleibt unverdünnt. Als nächstes werden 100 µl/Well der Proben, der Standard-Lösungen und Kontrollen auf die mit (Maus-)anti-human CA IX monoklonalen Antikörpern beschichtete 96-Well Platte aufgebracht. Danach findet eine zweistündige Inkubation auf einem Plattformschüttler (Heidolph Polymax 1040) bei 50 U/min statt. Im Anschluss wird die Platte unter Verwendung von 300 µl Platewash (nach vorheriger Verdünnung des Platewash-Konzentrates mit destilliertem Wasser im Verhältnis 1:20) sechsmal gewaschen (nach dreimaligem Waschen Drehung um 180 °). Nun werden 100 µl/Well des Detektor-Antikörpers (biotinylierter anti-CA IX Antikörper) zugegeben und für 30 Minuten auf dem Plattformschüttler inkubiert. Nach sechsmaligem Waschen (s.o.) erfolgt das Hinzufügen von 100 µl/Well der Konjugat-Lösung (nach vorheriger Verdünnung des Konjugat-Konzentrats mit dem Verdünnungsmittel im Verhältnis 1:50). Wieder findet eine Inkubation auf dem Plattformschüttler für 30 Minuten mit anschließendem Waschen (s.o.) statt. Um einen Farbumschlag zu erzeugen werden 100 µl/Well des Substrates (TMB Substrat) hinzu pipettiert. Nach Inkubation auf dem Plattformschüttler für weitere 25 Minuten wird schließlich 100 µl/Well Stop-Solution hinzugegeben. Die Messung des Absorptionsgrads der Proben erfolgt innerhalb von 30 Minuten mittels eines spektrophotometrischen Mikrotiterplatten-Lesegerätes (TECAN ELISA Reader Sunrise Remote) bei einer Wellenlänge von 450 nm.

3.2.3 Statistische Auswertung

Die Kollektivbeschreibung erfolgte mit Hilfe des Statistikprogramms IMB SPSS Statistics V.22 für Windows Software. Für den Vergleich der Gruppen (CA IX positiv vs. CA

IX negativ) wurden folgende Tests verwendet: t-Test bei normalverteilten Stichproben, Chi-Quadrat-Test bei nominalen Variablen, den nicht parametrischen Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test bei nicht normalverteilten Variablen.

Die weiterführenden statistischen Analysen erfolgten durch das Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie des Universitätsklinikums Hamburg Eppendorf unter Verwendung der Software R Version 3.2.2. (*R Core Team, 2016, Version 3.2.2. R: A language and environment for statistical computing URL: <https://www.r-project.org/>*).

Die Zusammenhänge zwischen den einzelnen klinischen und pathologischen Parameter wurden für zwei kontinuierliche Variablen anhand der Spearman Korrelation dargestellt und für eine kontinuierliche und eine binäre Variable mittels t-Test, bzw. bei einer nicht-normalverteilten kontinuierlichen Variablen mittels Wilcoxon-Mann-Whitney U-Test verglichen. Der Vergleich für mehr als zwei Gruppen bezüglich einer kontinuierlichen Variablen erfolgte mittels einer Varianzanalyse (ANOVA) bzw. bei einer nicht-normalverteilten kontinuierlichen Variablen mittels Kruskal-Wallis Test. Der Zusammenhang zwischen zwei kategorialen Variablen wurde mittels Chi-Quadrat Test, bzw. Fisher Exaktem Test analysiert.

Ein p-Wert von $\leq 0,05$ wurde als statistisch signifikant angesehen und eine Adjustierung des Signifikanzniveaus für multiples Testen wurde nicht vorgenommen, da es sich um eine rein explorative Analyse handelt. Für die Überlebenszeitanalyse (Overall, Event-free Ereigniszeitanalyse) wurde eine univariate Analyse mittels Cox Regression durchgeführt. Für einige Variablen wurde die univariate Kaplan-Meier-Kurve dargestellt. Um mehrere Ereignisse pro Individuum zu berücksichtigen, zum Beispiel Rezidiv und Tod oder Zweitrezidive, wurde eine rekurrente Ereigniszeitanalyse mittels Andersen-Gill Modell durchgeführt. Dieses Modell basiert auf dem Cox-Modell und berücksichtigt die unterschiedlichen Grundrisiken der Individuen für Erfahren eines Ereignisses durch einen robusten Varianzschätzer. Variablen, die bei der univariaten Analyse signifikant waren bzw. nicht zu ungenau in ihrer univariaten Schätzung waren, wurden in eine multivariate Analyse aufgenommen. Des Weiteren wurde eine Krankheits-spezifische Analyse durchgeführt.

Um das konkurrierende Event, Tod durch andere Ursache, zu berücksichtigen, wurde eine Competing Risk Analyse ergänzt.

Zur Literaturverwaltung wurde das Programm EndNote X9 für Mac OS (Clarivate Analytics, Philadelphia, Pa., USA) verwendet.

4 Ergebnisse

4.1 Kollektivbeschreibung

Das untersuchte Patientenkollektiv bestand insgesamt aus 272 Patientinnen mit primärem Endometriumkarzinom. Bei diesen Patientinnen wurden klinische und histopathologische Parameter erhoben und ein Follow-up durchgeführt (Kap. 4.1., S. 61; Tab. 4.3, S. 63). Bei 157 der Patientinnen wurde die CA IX-Expression im Tumorgewebe untersucht. Bei 46 der Patientinnen lagen präoperativ gewonnene Serumproben vor, aus denen die CA IX-Konzentration bestimmt werden konnte.

Alter der Patientinnen

Das mittlere Alter zum Zeitpunkt der Erstdiagnose des Endometriumkarzinoms lag bei rund 67 Jahren. Die jüngste Patientin war 34, die älteste 90 Jahre alt (Tab. 4.1, S. 61).

Histologischer Typ und Stadieneinteilung

Bei 225 der Patientinnen (83 %) zeigte das Tumorgewebe histologisch eine endometrioiden Differenzierung. Das vorherrschende pT- bzw. FIGO-Stadium war bei 150 (55,8 %) bzw.

146 (54,1 %) Patientinnen Stadium pT1a bzw. FIGO IA. Die genauen Verteilungen der histologischen Tumortypen und der Stadieneinteilung ist der Tabelle 4.2 (S. 62) zu entnehmen.

Nodalstatus und Fernmetastasen

Bei 140 Patientinnen wurden intraoperativ Lymphknoten entnommen. Davon konnten bei 31 (22,1 %) Patientinnen Lymphknotenmetastasen festgestellt werden. Im Mittel wiesen die betroffenen Patientinnen fünf befallene Lymphknoten auf. 14 (5,1 %) Patientinnen zeigten zum Zeitpunkt der Erstdiagnose Fernmetastasen (Tab. 4.2, S. 62).

Follow-up

Insgesamt hatten 41 Patientinnen mindestens ein Rezidiv. Dieses trat im Median nach 16,8 Monaten auf (3,2 - 63,7 Monate). 48 der Patientinnen sind aufgrund des Endometriumkarzinoms verstorben, 55 an einer anderen Todesursache (Tab. 4.3, S. 63)

Altersverteilung		
	n	%
Alter bei Erstdiagnose (n = 272)		
mittleres Alter	67,3 ± 11,3	
medianes Alter	67	
Spannweite	34 - 90	
Altersgruppen (n = 272)		
31 - 40 Jahre	2	(0,7)
41 - 50 Jahre	19	(7,0)
51 - 60 Jahre	52	(19,1)
61 - 70 Jahre	86	(31,6)
71 - 80 Jahre	74	(27,2)
81 - 90 Jahre	39	(14,3)

Tabelle 4.1: Altersverteilung.

Basischarakteristika		
	n	%
Tumorhistologie (n = 271)		
endometrioides Adenokarzinom	225	(83,0)
klarzelliges Adenokarzinom	2	(0,7)
serös-papilläres Adenokarzinom	23	(8,5)
adenosquamöses Karzinom	10	(3,7)
Müllerscher Misch tumor	2	(0,7)
muzinöses Adenokarzinom	9	(3,3)
pT-Stadium (n = 269)		
1a	150	(55,8)
1b	51	(19,0)
2	30	(11,2)
3a	21	(7,8)
3b	13	(4,8)
4	4	(1,5)
pN-Stadium (n = 271)		
pN0	109	(40,2)
pN1	31	(11,4)
keine LK entnommen	131	(48,3)
M-Stadium (n = 272)		
M0	258	(94,9)
M1	14	(5,1)
FIGO-Stadium (n = 270)		
IA	146	(54,1)
IB	47	(17,4)
II	24	(8,9)
IIIA	7	(2,6)
IIIB	5	(1,9)
IIIC1	11	(4,1)
IIIC2	13	(4,8)
IVA	3	(1,1)
IVB	14	(5,2)

Tabelle 4.2: Basischarakteristika

Abk.: LK - Lymphknoten, FIGO - Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique.

Follow-up		
Mittlere Dauer (in Monaten)	75,3	
Mediane Dauer (in Monaten)	61,8	
Spannweite (in Monaten)	0 - 209,0	
Patienten mit Rezidiv	41	(15,1)
Patienten ohne Rezidiv	231	(84,9)
Todesfälle durch Tumorerkrankung	48	(17,6)

Tabelle 4.3: Follow-up (n = 272).

4.2 Bedeutung bekannter Prognosefaktoren im Endometriumkarzinom

In dieser Arbeit wurde die Relevanz einiger bekannter Prognosefaktoren für das Überleben von 272 Patientinnen mit Endometriumkarzinom untersucht. Die Überlebenszeiten (OAS, DFS) wurden zunächst univariat mittels Cox-Regression untersucht. Für alle bei der univariaten Analyse signifikanten und in ihrer Schätzung nicht zu ungenauen Prognosefaktoren wurde ergänzend eine multivariate Analyse durchgeführt. Im Folgenden sind die Ergebnisse für die Analysen der einzelnen Prognosefaktoren (FIGO-Stadium, T-Stadium, Grading, Myometriuminvasionstiefe, tumorfreie Distanz zur Serosa, histologischer Typ, Gefäß- und Lymphgefäßinvasion, Fernmetastasen, Diabetes mellitus, BMI sowie arterieller Hypertonus) wiedergegeben.

4.2.1 FIGO- und T-Stadium

Sowohl beim Gesamtüberleben, als auch beim rezidivfreien Überleben (DFS) ergab sich eine Verkürzung der Überlebenszeiten mit steigendem FIGO-Stadium. In der univariaten Analyse zeigten sich die Ergebnisse als statistisch signifikant ($p < 0,01$).

Die Wahrscheinlichkeit im beobachteten Zeitraum zu versterben stieg im Verhältnis zum FIGO-Stadium I bei Vorliegen eines Stadiums II um das zwei- ($p < 0,01$) bei Vorliegen eines Stadiums III oder IV um das 4,7-fache ($p < 0,01$). Das mediane Gesamtüberleben im FIGO-Stadium I lag bei ca. 164 Monaten, im Stadium II bei 94 Monaten und im Stadium

III/IV bei 32 Monaten. Betrachtet man das krankheitsfreie Überleben (DFS), so fällt hier eine Verkürzung der rezidivfreien Überlebenszeit um den Faktor 2,2 ($p < 0,01$) im FIGO-Stadium II und um den Faktor 5,3 ($p < 0,01$) im FIGO-Stadium III/IV auf. Das mediane krankheitsfreie Überleben beträgt 170 Monate im Stadium I vs. 94 Monate im Stadium II vs. 31 Monate im Stadium III/IV.

Mit steigendem pT-Stadium zeigte sich eine signifikante Verkürzung des Gesamtüberlebens bzw. des rezidivfreien Überlebens (jeweils $p < 0,01$). Die Wahrscheinlichkeit im beobachteten Zeitraum zu versterben stieg mit zunehmendem pT-Stadium um den Faktor 1,6 ($p < 0,01$), wohingegen das Risiko ein Rezidiv zu entwickeln oder zu versterben um den Faktor 1,7 ($p < 0,01$) stieg.

Auch in der multivariaten Analyse zeigten sich hier signifikante Ergebnisse (*OAS*: Faktor 1,5; $p < 0,01$, *DFS*: Faktor 1,5; $p < 0,01$) (Abb. 4.1).

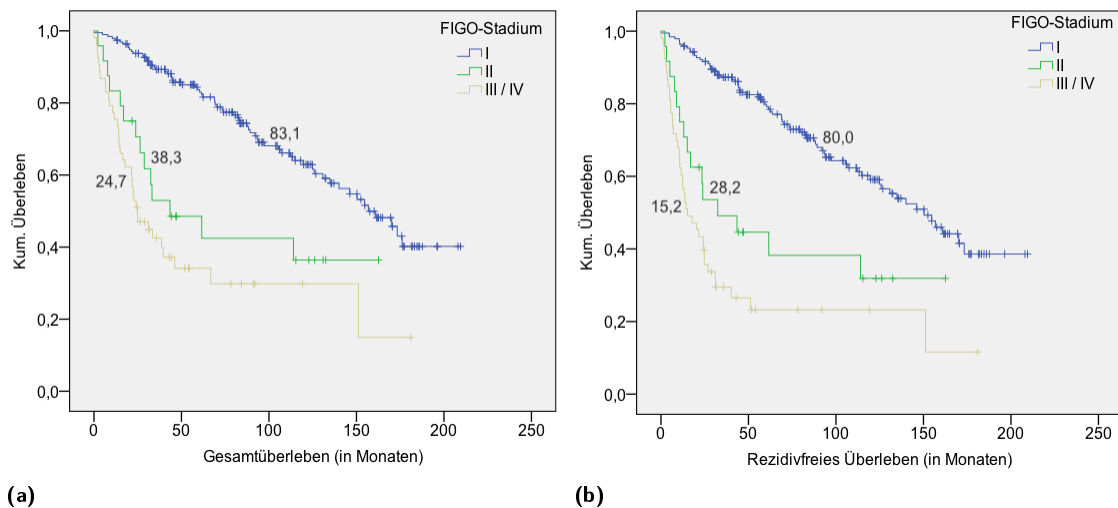


Abbildung 4.1: Überleben in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium (I vs. II vs. III/IV; sowie jeweiliger Median):

- (a) Gesamtüberleben.
- (b) Rezidivfreies Überleben.

4.2.2 Grading

Die Analyse zeigte eine Verkürzung des Gesamtüberlebens bzw. des rezidivfreien Überlebens mit steigendem Grading (G). Die Risikoerhöhung bezieht sich jeweils auf einen Vergleich mit Patientinnen mit G1 Tumoren. Die Wahrscheinlichkeit im beobachteten Zeitraum zu versterben war bei Patientinnen mit undifferenzierten Tumoren (G3) um den Faktor 2,9, mit einem mäßig differenzierten (G2) um das 2,5-fache größer. Die Wahrscheinlichkeit ein Rezidiv zu entwickeln oder zu versterben war bei Patientinnen mit einem undifferenzierten Tumor (G3) um den Faktor 3,2 erhöht und bei Patientinnen mit einem mäßig differenzierten Tumor (G2) 2,7-mal höher im Vergleich zu Patientinnen mit G1.

In der multivariaten Analyse zeigte sich sowohl beim OAS als auch beim DFS eine signifikante Verkürzung der Überlebenszeit bzw. krankheitsfreien Überlebenszeit bei Patientinnen mit G3 Tumoren im Vergleich zu Patientinnen mit G1 Tumoren (OAS: Faktor 2,8; $p=0,03$, DFS: Faktor 2,9; $p<0,01$). Zudem konnte eine schwache positive Korrelation zwischen dem Grading und dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen beobachtet werden ($rSp=0,225$; $p=0,014$) (Abb. 4.2, S. 66).

4.2.3 Myometriuminvasion (DOI) und tumorfreie Distanz zur Serosa (TFD)

In der univariaten Analyse zeigte sich eine Verkürzung der Überlebenszeit (OAS) bzw. der rezidivfreien Überlebenszeit (DFS) mit steigender Eindringtiefe des Tumors in das Myometrium. Die Wahrscheinlichkeit im beobachteten Zeitraum zu versterben bzw. ein Rezidiv zu entwickeln oder zu versterben stieg mit der Tiefe der Myometriuminvasion um den Faktor 1,035 bzw. 1,037 je mm Tiefe ($p<0,01$). Nach Unterteilung des untersuchten

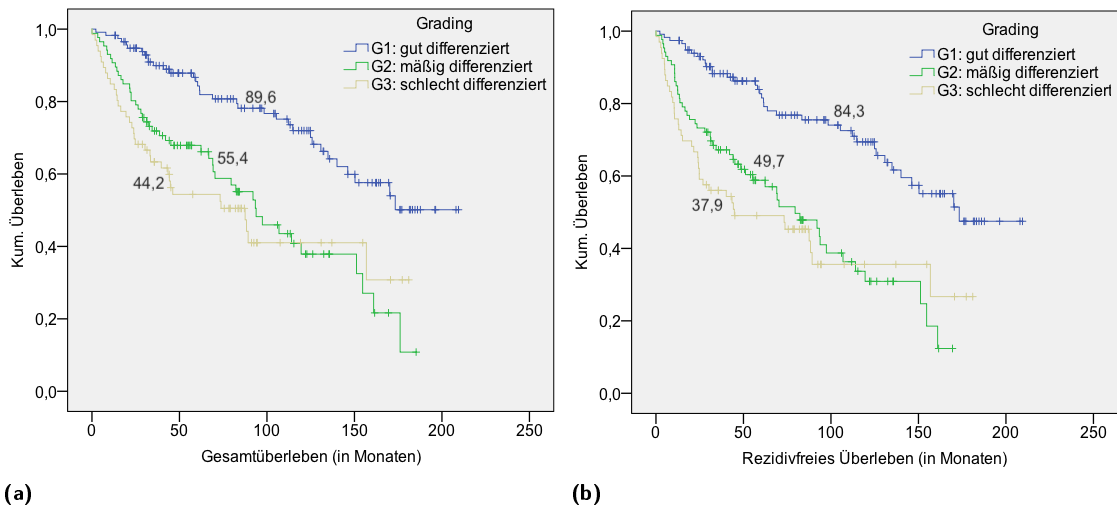


Abbildung 4.2: Überleben in Abhängigkeit vom Grading (G1 vs. G2 vs. G3; sowie jeweiliger Median):

- (a) Gesamtüberleben.
- (b) Krankheitsfreies Überleben.

Kollektiv in Patientinnen mit ≥ 4 mm Myometriuminvasion und < 4 mm Myometriuminvasion, konnte auch hier in der univariaten Analyse ein signifikanter Unterschied beobachtet werden (OAS: Faktor 0,4; $p < 0,01$, DFS: Faktor 0,4; $p < 0,01$).

Sowohl zwischen der Myometriuminfiltration als auch der tumorfreien Distanz zur Serosa und dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen konnte ein signifikanter Zusammenhang beobachtet werden ($p = 0,012$ bzw. $p < 0,01$).

Bei der Untersuchung des Einflusses der tumorfreien Distanz zur Serosa auf das Überleben der Patientinnen konnten ebenfalls statistisch signifikante Ergebnisse beobachtet werden. Die Wahrscheinlichkeit im beobachteten Zeitraum zu versterben sank mit dem Faktor 0,9 je Millimeter ($p < 0,01$). Das Risiko ein Rezidiv zu entwickeln oder zu versterben sank mit jedem Millimeter um den Faktor 0,9 ($p < 0,01$). Nach Unterteilung des Kollektivs in Patientinnen > 7 mm TFD und Patientinnen ≤ 7 mm TFD, zeigte sich weiterhin ein signifikantes Ergebnis mit einem Faktor von 2,3 für das OAS ($p < 0,01$) und einem Faktor von 2,6 für das DFS ($p < 0,01$) (Abb. 4.3, S. 67).

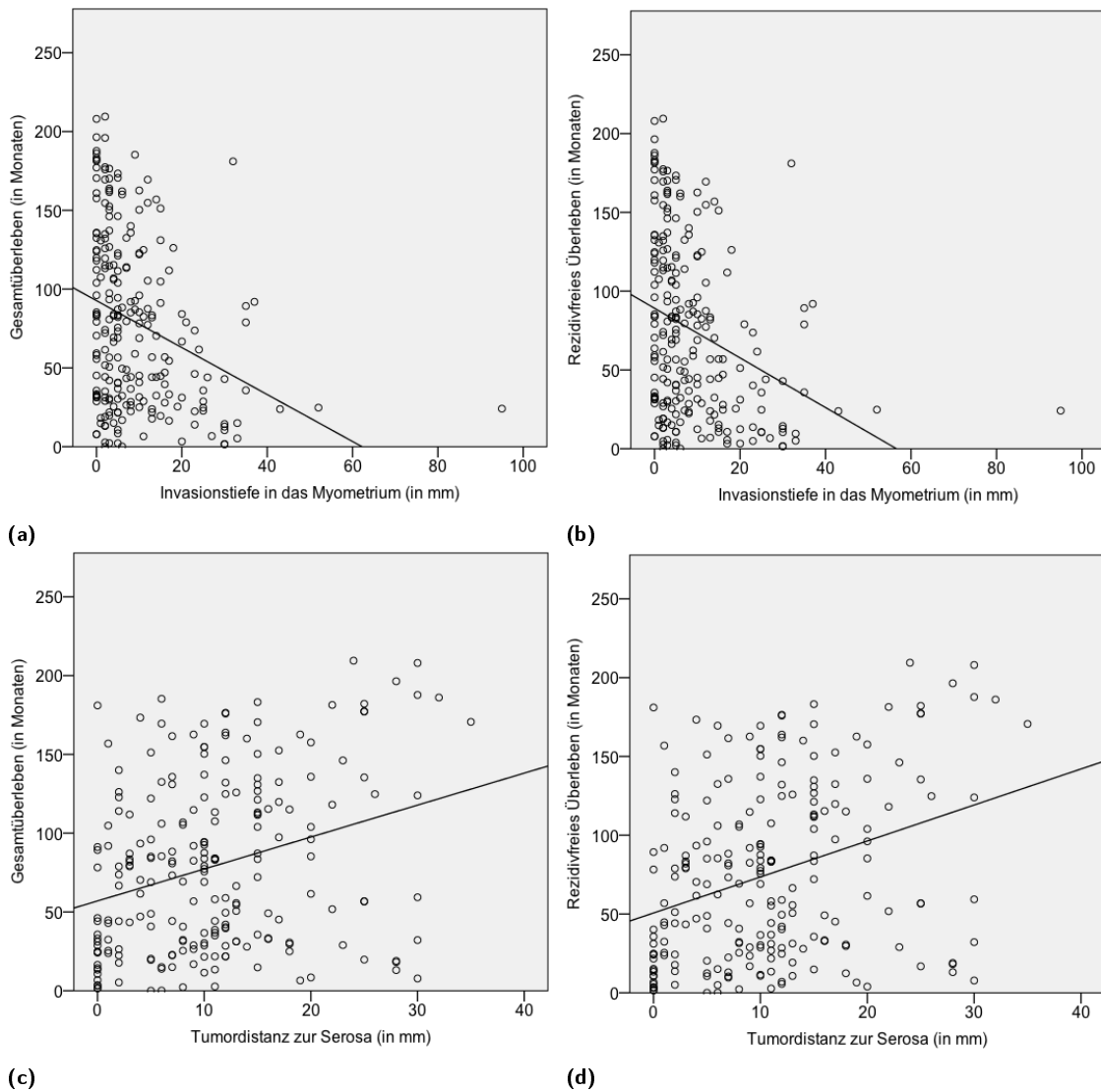


Abbildung 4.3: Gesamt- und rezidivfreies Überleben für die Myometriuminvasion (DOI) und die tumorfreie Distanz zur Serosa (TFD) sowie Darstellung der jeweiligen Regressionsgeraden:

- (a) Gesamtüberleben DOI.
- (b) Krankheitsfreies Überleben DOI.
- (c) Gesamtüberleben TFD.
- (d) Krankheitsfreies Überleben TFD.

4.2.4 Histologien

Bei der Analyse der prognostischen Bedeutung der unterschiedlichen histologischen Typen, fiel ein signifikanter Unterschied beim Überleben (OAS und DFS) der Patientinnen mit endometrioiden Adenokarzinomen im Vergleich zu Patientinnen mit serös-papillärem Adenokarzinom auf. Die Feststellungen beziehen sich jeweils auf einen Vergleich mit Patientinnen mit endometrioidem Adenokarzinom.

In der univariaten Analyse zeigte sich, dass bei Vorliegen eines serös-papillären Adenokarzinoms das Risiko zu versterben bzw. ein Rezidiv zu entwickeln oder zu versterben signifikant erhöht war ($p < 0,01$). Die Wahrscheinlichkeit hierfür war im beobachteten Zeitraum um das 3,2-fache größer als bei Patientinnen mit einem endometrioiden Adenokarzinom (Abb. 4.4, S. 68).

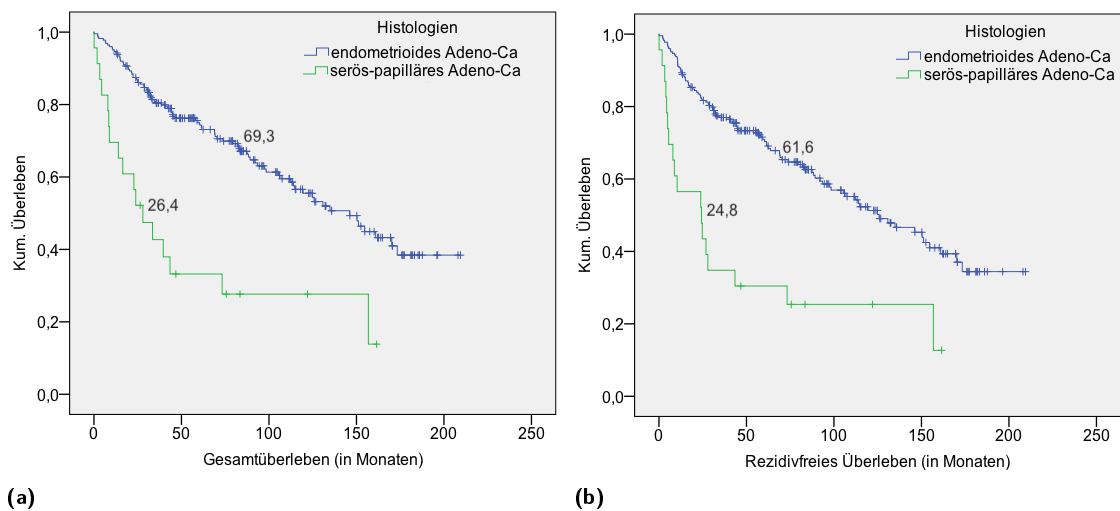


Abbildung 4.4: Überleben in Abhängigkeit von der Histologie (endometrioid vs. serös-papillär; sowie jeweiliger Median):

- (a) Gesamtüberleben.
- (b) Rezidivfreies Überleben.

4.2.5 Gefäß- und Lymphgefäßinvasion

Sowohl die Gefäß-, als auch die Lymphgefäßinvasion zeigten sich in der univariaten Analyse als signifikante Prognosefaktoren.

In der univariaten Analyse war das Risiko im beobachteten Zeitraum zu versterben bei Vorliegen einer Gefäß- bzw. Lymphgefäßinvasion um den Faktor 2,3 ($p < 0,01$) bzw. 2,1 ($p < 0,01$) erhöht.

Das Risiko im beobachteten Zeitraum ein Rezidiv zu entwickeln oder zu versterben erhöhte sich bei Vorliegen einer Gefäß- bzw. Lymphgefäßinvasion um den Faktor 2,3 ($p < 0,01$) bzw. 2,2 ($p < 0,01$). Zudem konnte eine schwache Korrelation zwischen einer Gefäß- bzw. einer Lymphgefäßinvasion und dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen beobachtet werden ($rSp = 0,302$, $p < 0,01$ bzw. $rSp = 0,329$, $p < 0,01$) (Abb. 4.5, S. 70).

4.2.6 Lymphknotenmetastasen (N1) und Fernmetastasen (M1)

Bei Patientinnen mit Lymphknotenmetastasen (N1) konnte im Vergleich zu Patientinnen ohne Lymphknotenmetastasen (N0) ein signifikanter Unterschied bei der Überlebenszeit festgestellt werden. Die Wahrscheinlichkeit im beobachteten Zeitraum zu versterben stieg bei Patientinnen mit positivem Nodalstatus um den Faktor 4,2 ($p < 0,01$). Die Wahrscheinlichkeit ein Rezidiv zu erleiden oder zu versterben stieg um den Faktor 4,3 ($p < 0,01$). Aufgrund eines großen Konfidenzintervalls sind diese Schätzungen eher ungenau. Auch bei Patientinnen mit Fernmetastasen war im Vergleich zu Patientinnen ohne Fernmetastasen eine signifikante Verkürzung der Überlebenszeiten (OAS und DFS) festzustellen. Das Risiko im beobachteten Zeitraum zu versterben erhöht sich bei Vorliegen von Fernmetastasen um den Faktor 5,0 ($p < 0,01$).

Das Risiko im beobachteten Zeitraum Rezidiv zu erleiden oder zu versterben, erhöht sich bei Vorliegen von Fernmetastasen um den Faktor 6,1 ($p < 0,01$) (Abb. 4.6, S. 71).

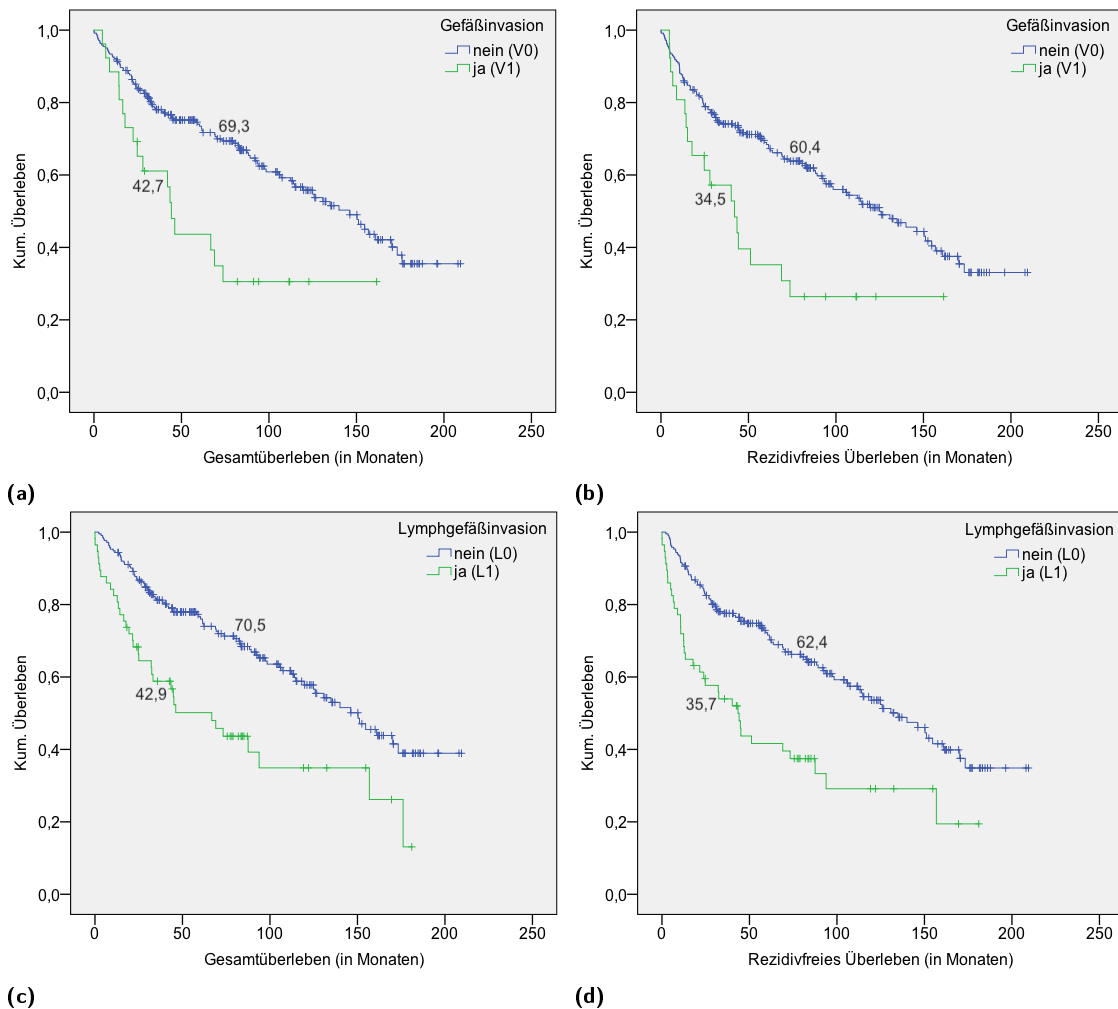


Abbildung 4.5: Überleben in Abhängigkeit von der Angio- und Lymphgefäßinvasion (sowie jeweiliger Median):

- (a) Angioinvasion: Gesamtüberleben.
- (b) Angioinvasion: Rezidivfreies Überleben.
- (c) Lymphgefäßinvasion: Gesamtüberleben.
- (d) Lymphgefäßinvasion: Rezidivfreies Überleben.

4.2.7 Diabetes mellitus, BMI und arterieller Hypertonus

Die durchgeführten Analysen zeigten, dass eine Erkrankung mit Diabetes mellitus einen signifikanten Einfluss auf das Überleben (OAS und DFS) der Patientinnen hatte. Das Risiko im beobachteten Zeitraum zu versterben bzw. ein Rezidiv zu entwickeln oder zu

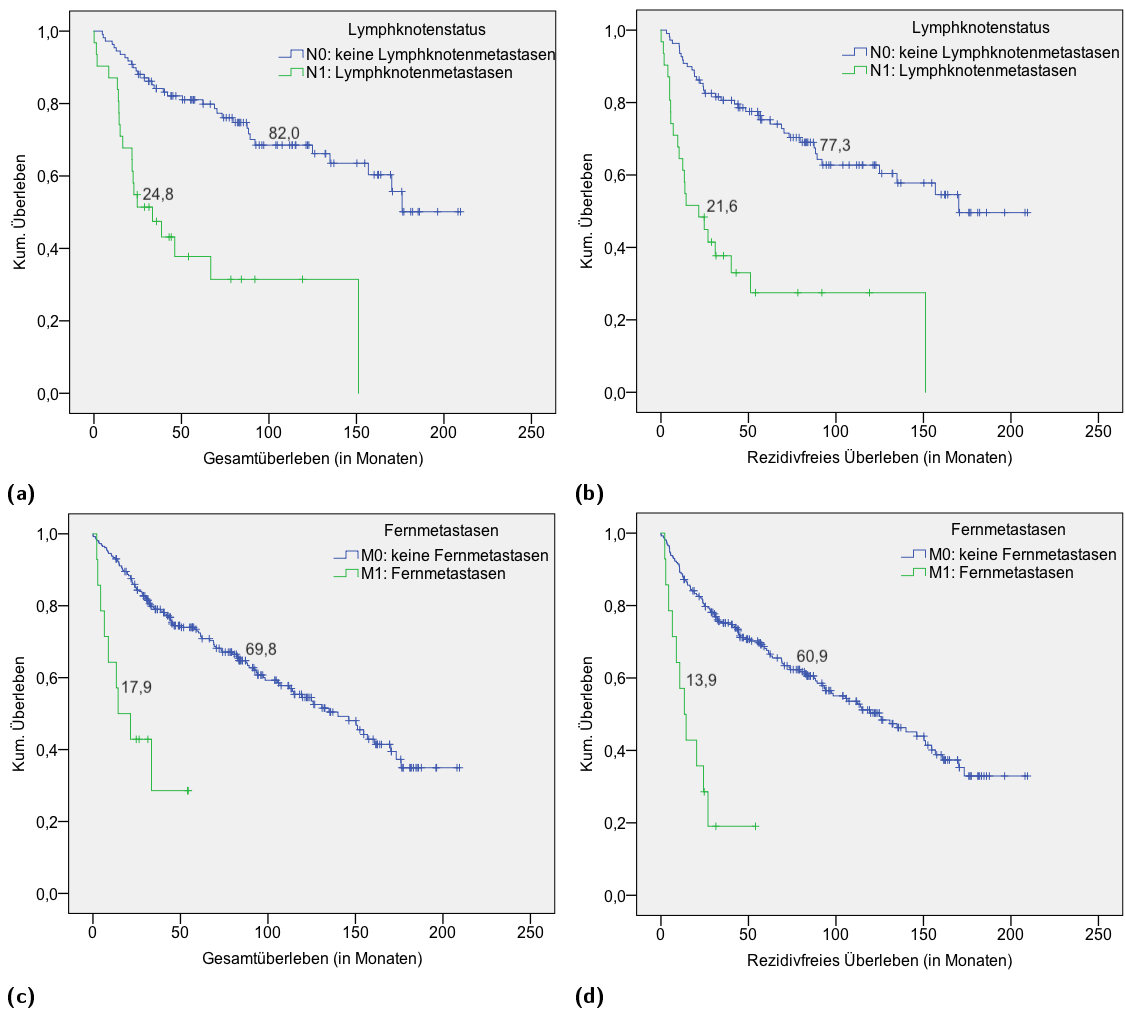


Abbildung 4.6: Überleben in Abhängigkeit von Lymphknoten- und Fernmetastasen (sowie jeweiliger Median):

- (a) Lymphknotenmetastasen: Gesamtüberleben.
- (b) Lymphknotenmetastasen: Rezidivfreies Überleben.
- (c) Fernmetastasen: Gesamtüberleben.
- (d) Fernmetastasen: Rezidivfreies Überleben.

versterben erhöht sich bei Vorliegen eines Diabetes mellitus um den Faktor 1,9 ($p < 0,01$). Auch in der multivariaten Analyse zeigte sich dieser signifikante Effekt mit einem Faktor von 2,5 beim OAS bzw. 2,4 beim DFS ($p < 0,01$).

Weder der BMI noch ein arterieller Hypertonus zeigten in den Überlebenszeitanalysen einen signifikanten Einfluss (Abb. 4.7, S. 72).

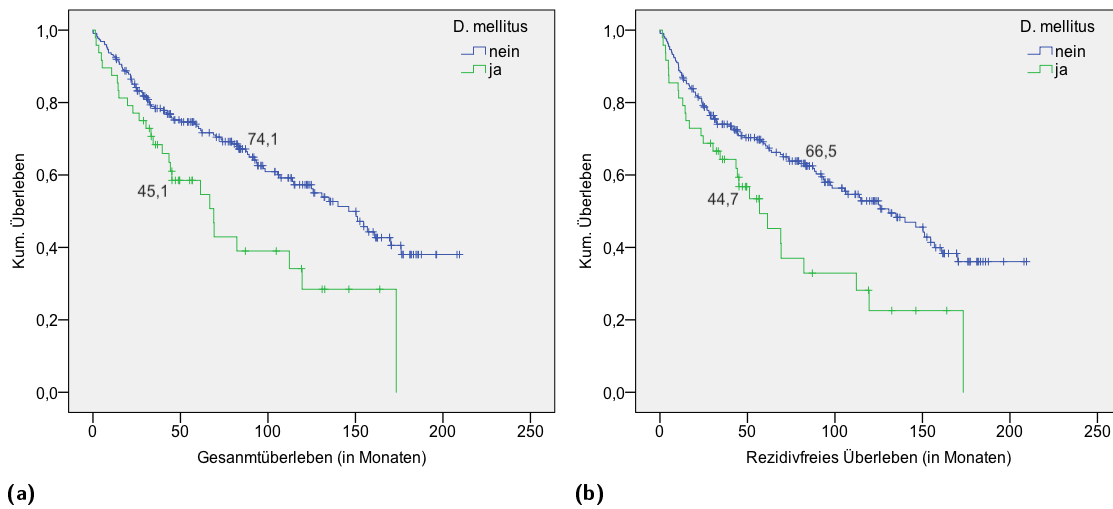


Abbildung 4.7: Überleben in Abhängigkeit von einer Diabetes-Erkrankung (sowie jeweiliger Median):

- (a) Gesamtüberleben.
- (b) Rezidivfreies Überleben.

4.3 Die CA IX-Expression im Tumorgewebe als Prognosefaktor im Endometriumkarzinom

Für diese Studie wurde CA IX im Tumorgewebe von 157 Patientinnen mit Endometriumkarzinom mittels Immunhistochemie angefärbt und das Färbemuster anhand eines vierstufigen Bewertungssystems bestimmt (siehe Kap. 3.2.1, S. 51). Für die folgenden Analysen fand eine Aufteilung des Kollektivs in CA IX-positive vs. CA IX-negative Tumormproben statt. Neben Proben mit fehlendem Färbemuster, wurde auch ein sehr schwach ausgeprägtes oder nur fokales Färbemuster (Ausprägung 1) als negativ angesehen. Die Verteilung der Färbemuster stellte sich wie folgt dar: Bei einem Großteil der Proben konnte keine CA IX-Expression festgestellt werden. Eine schwach ausgeprägte und mäßige Expression traten ähnlich häufig auf, wohingegen eine starke Expression nur in einer Probe beobachtet werden konnte (Abb. 4.8, S. 73).

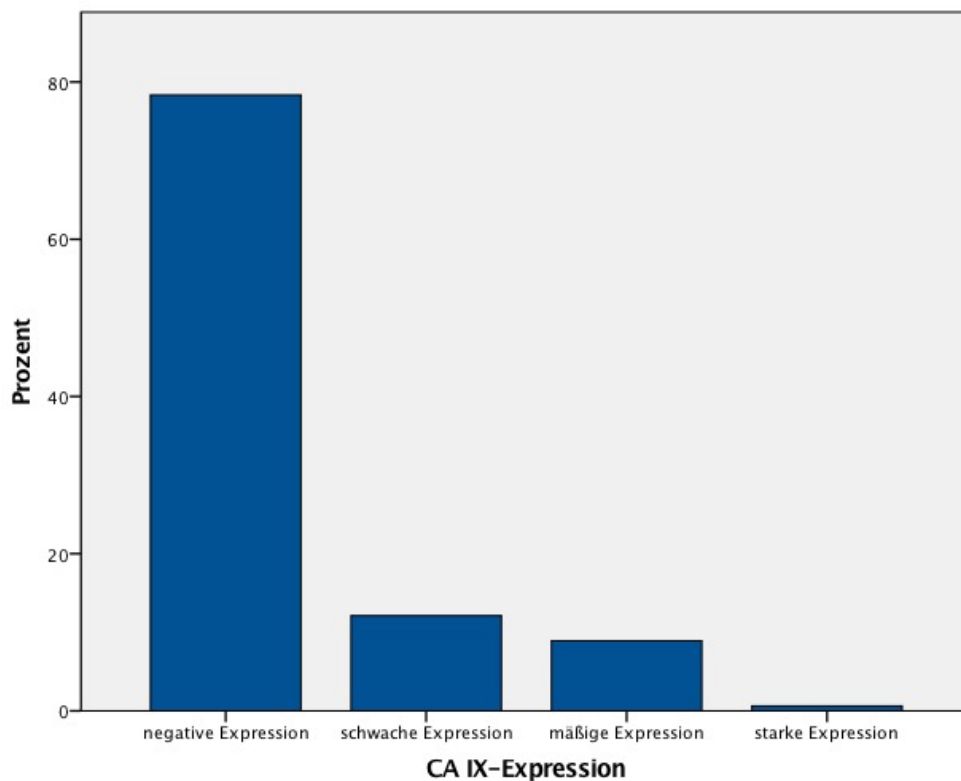


Abbildung 4.8: CA IX-Expressionsmuster: Verteilung des jeweiligen CA IX-Expressionsmusters.

4.3.1 Intratumorale CA IX-Expression und klinisch-pathologische Parameter

In dieser Arbeit wurde der Zusammenhang zwischen bereits bekannten Prognosefaktoren im Endometriumkarzinom und der intratumoralen CA IX-Expression analysiert. Hierbei konnten keine signifikanten Zusammenhänge zwischen der CA IX-Expression im Tumor und bekannten klinisch-pathologischen Prognosefaktoren festgestellt werden (Tab. 4.4, S. 75 - 76).

Histopathologische Parameter in Abhängigkeit von der CA IX-Expression					
	CA IX-Expression				p-Wert
	negativ (0 - 1)		positiv (2 - 3)		
	n	(%)	n	(%)	
Gesamtkollektiv (n = 157)	142	(90,4)	15	(9,6)	
Erkrankungsalter (n = 157)					p = 0,098
Mittlers Alter (in Jahren)	68,7		73,6		
Medianes Alter (in Jahren)	68		79		
Histologischer Tumortyp (n = 157)					p = 0,390
endometrioides Adenokarzinom	126	(80,3)	15	(9,6)	
serös-papilläres Adenokarzinom	14	(8,9)	0	(0,0)	
muzinöses Adenokarzinom	2	(1,3)	0	(0,0)	
T-Stadium (n = 154)					p = 0,929
1a	85	(55,2)	8	(5,2)	
1b	29	(18,8)	3	(1,9)	
2	14	(9,1)	2	(1,3)	
3a	7	(4,5)	1	(0,6)	
3b	5	(3,2)	0	(0,0)	
4	0	(0,0)	0	(0,0)	
Nodalstatus (n = 76)					p = 1,000
pN0	58	(76,3)	4	(5,3)	
pN1	13	(17,1)	1	(1,3)	
FIGO-Stadium (n = 155)					p = 0,966
I	109	(70,3)	11	(7,1)	
II	13	(8,4)	1	(0,6)	
III/IV	19	(12,3)	2	(1,3)	
Differenzierungsgrad (n = 156)					p = 0,054
G1	63	(40,4)	8	(5,1)	
G2	49	(31,4)	1	(0,6)	
G3	29	(18,6)	6	(3,8)	
Lymphangiosinvasion (n = 157)					p = 0,218
L0	114	(72,6)	10	(6,4)	
L1	28	(17,8)	5	(3,2)	
Myometriuminvasionstiefe (n = 143)					p = 0,124
Mittlere Invasionstiefe (in mm)	7,0		13,9		
Mediane Invasionstiefe (in mm)	5		8		

Histopathologische Parameter in Abhängigkeit von der CA IX-Expression					
	CA IX-Expression				p-Wert
	negativ (0 - 1)		positiv (2 - 3)		
	n	(%)	n	(%)	
Myometriuminvasionstiefe gruppiert(n = 143)					p = 0,251
< 4 mm	55	(38,5)	3	(2,1)	
≥ 4 mm	5	(53,1)	8	(6,3)	
Tumordistanz zur Serosa (n = 134)					p = 0,816
Mittelle Distanz (in mm)	11,2		11,2		
Mediane Distanz (in mm)	10		10		
Tumordistanz zur Serosa gruppiert(n = 134)					p = 0,895
≤ 7 mm	47	(35,1)	4	(3,0)	
> 7 mm	77	(57,5)	6	(4,5)	
s-CA IX(n = 17)					p = 0,899
Mittlere Konzentration (in pg/ml)	171,2		214,8		
Mediane Konzentration (in pg/ml)	119,4		168,7		

Tabelle 4.4: Histopathologische Parameter in Abhängigkeit von der CA IX-Expression.

4.3.2 CA IX-Expression und Überleben

Um die prognostische Relevanz der intratumoralen CA IX-Expression zu ermitteln, wurden die Überlebenszeiten der Patientinnen (Gesamtüberleben und rezidivfreies Überleben) zunächst in einer univariaten Analyse mittels Cox-Regression untersucht und in einer Kaplan-Meier Kurve dargestellt. Für Patientinnen mit CA IX-positiven Tumoren ergab sich im Vergleich zu Patientinnen mit CA IX-negativen Tumoren ein vergleichbares 5-Jahres-Überleben (*negativ*: 71,5 % vs. *positiv*: 73,3 %). Unterschiede zeigten sich erst bei der 10-Jahres-Überlebensrate (*negativ*: 53,7 % vs. *positiv*: 26,8 %) (Abb. 4.9, S. 76). Das mediane Gesamtüberleben wies mit ca. 88 Monaten bei CA IX-positiven Patien-

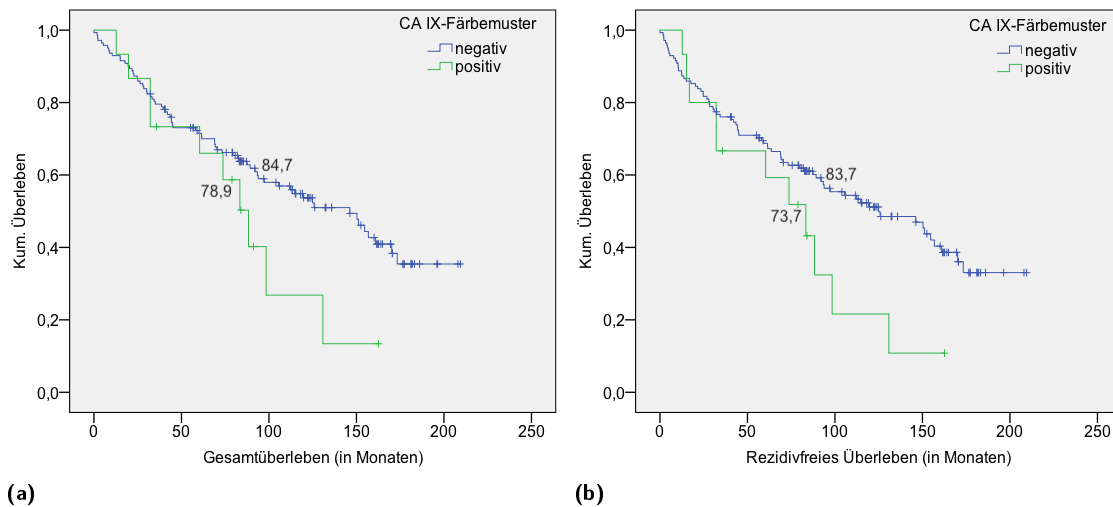


Abbildung 4.9: Überleben in Abhängigkeit von der CA IX-Expression (positiv vs. negativ; sowie jeweiliger Median):

- (a) Gesamtüberleben.
- (b) Rezidivfreies Überleben.

tinnen gegenüber 146 Monaten bei CA IX-negativen Tumoren zwar keinen signifikanten Unterschied auf ($p = 0,112$), ließ jedoch eine Tendenz erkennen. Auch das mediane krankheitsfreie Überleben der Patientinnen mit CA IX-positiven Tumoren zeigte sich mit 83 vs. 125 Monaten verkürzt ($p = 0,076$).

4.4 Die Konzentration der löslichen CA IX im Serum (s-CA IX) als prognostischer Prognosefaktor im Endometriumkarzinom

Zusätzlich wurde die lösliche Molekülkonzentration der Carboanhydrase CA IX in präoperativ gewonnenen Serumproben von 46 Patientinnen mittels ELISA bestimmt. Ein Vergleichskollektiv mit gesunden Individuen stand nicht zur Verfügung. Die Spannwei-

te der s-CA IX-Konzentration betrug: 0-731,4 pg/ml. Hieraus ergibt sich ein Median von 183,6 pg/ml.

4.4.1 Serumkonzentration von CA IX und klinisch-pathologische Parameter

Bei der Analyse möglicher Zusammenhänge zwischen der s-CA IX-Konzentration und bekannten Prognosefaktoren bzw. der intratumoralen CA IX-Expression im Endometriumkarzinom zeigten sich keine signifikanten Ergebnisse.

4.4.2 s-CA IX-Konzentration und Überleben

Um einen möglichen Einfluss der s-CA IX auf die Prognose festzustellen wurde eine Überlebenszeitanalyse (OAS, DFS) durchgeführt. Auch nach einer Unterteilung des Patientenkollektivs in Patientinnen mit s-CA IX-Konzentrationen kleiner bzw. größer als der Median (Median: 183,61 pg/ml), konnte, wie auch bei der intratumoralen CA IX-Konzentration, kein signifikanter Zusammenhang zwischen s-CA IX-Konzentration und Überlebenszeit beobachtet werden (rSp : 0,066; $p=0,665$)(siehe Abbildung). Das krankheitsfreie Überleben zeigte sich im Kollektiv mit s-CA IX-Konzentrationen oberhalb des Medians zwar tendenziell kürzer (31,1 Monate) als bei Patientinnen mit Konzentrationen unterhalb des Medians (60,4 Monate), insgesamt zeigte sich aber kein signifikanter Unterschied ($p=0,954$) (Abb. 4.10)

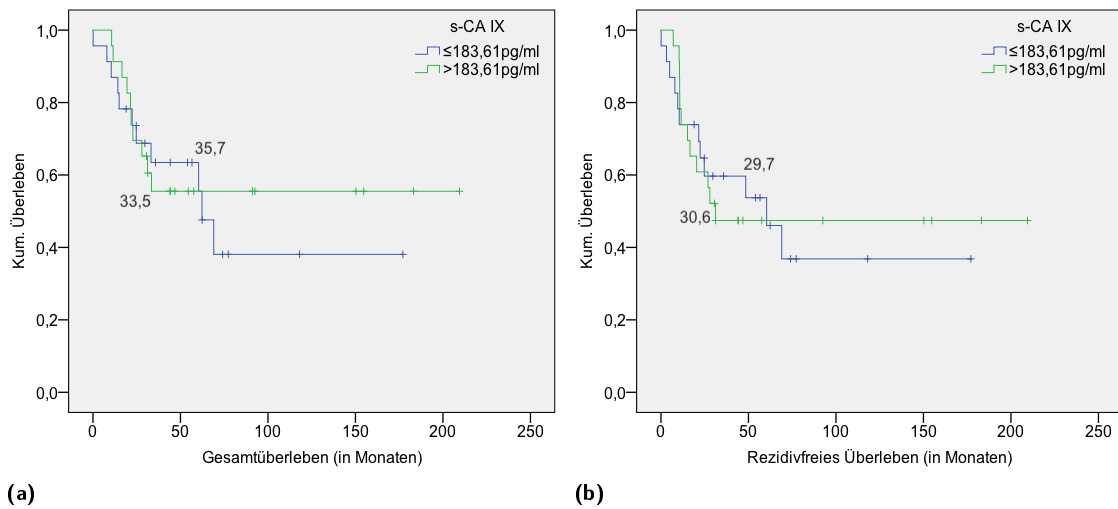


Abbildung 4.10: Überleben in Abhängigkeit von der s-CA IX-Konzentration ($\leq 183,61$ pg/ml vs. $> 183,61$ pg/ml; sowie jeweiliger Median):
 (a) Gesamtüberleben.
 (b) Rezidivfreies Überleben.

4.5 Overall, Event-free und Recurrente Ereigniszeitanalyse

Für alle bei der univariaten Analyse signifikanten und in ihrer Schätzung nicht zu ungenauen Variablen wurde ergänzend eine multivariate Analyse durchgeführt.

Es stellte sich heraus, dass die Variablen BMI, Hypertonus, CA IX und freies CA IX im Serum keinen signifikanten Einfluss auf die Überlebenszeit haben. Für Patientinnen mit Diabetes mellitus ist das Risiko ein Ereignis (Rezidiv oder Tod) zu erfahren jedoch signifikant höher. Beim pT-Stadium ist eine leichte Tendenz zu erkennen, dass ein fortgeschrittenes Stadium zu einem erhöhten Risiko führt ein Ereignis zu erfahren.

4.6 Cause-Specific und Competing Risk (Todesursache)

Um die Todesursachen einzeln zu analysieren wurde eine Cause-Specific und Competing Risk-Analyse angeschlossen. Aus dieser Cause-specific Analyse wird deutlich, dass das Alter keine Rolle beim Tod durch ein Endometriumkarzinom spielt, aber ein höheres Alter die anderen Todesursachen begünstigt. Das Alter ist auch der einzige Einflussfaktor für ein Versterben durch andere Ursachen.

Ein höheres pT-Stadium führt zu einem erhöhten Risiko für Tod durch das Endometriumkarzinom oder für ein Rezidiv, aber beeinflusst nicht den Tod aus anderen Gründen.

Myoinvasion, Tumordistanz zur Serosa, Gefäßinvasion sowie Lymphgefäßinvasion haben adjustiert für andere Variablen keinen Einfluss.

Das Grading liefert eine zu ungenaue Schätzung, aber es gibt Tendenzen, dass ein höheres Grading zu einem erhöhten Risiko für Rezidiv oder Tod durch das Endometriumkarzinom führt, während es Tod durch andere Ursache weniger beeinflusst.

Dies gilt ebenfalls für den Nodalstatus, wobei auch hier $N = 1$ tendenziell zu einem erhöhten Risiko für ein Rezidiv oder Tod durch das Endometriumkarzinom verglichen mit $N = 0$ führt.

Die Fernmetastasen liefern ebenfalls zu ungenaue Schätzungen (Tendenz: $pM = 1$ führt zu einem höheren Risiko für Rezidiv oder Tod durch Endometriumkarzinom; kein Einfluss auf Tod durch andere Ursache).

Für die Histologie ergeben sich zu ungenaue Schätzer. Auch hier zeichnet sich ab, dass eine serös-papilläre im Vergleich zu einer endometrioiden Histologie zu einem erhöhten Risiko führt, eines der beiden Ereignisse (Rezidiv oder Tod) zu erleiden.

5 Diskussion

5.1 Kollektiv und Methodik

Das mittlere Erkrankungsalter der Patientinnen lag im betrachteten Kollektiv bei 67,3 Jahren. Dies entspricht in etwa den Angaben des Robert Koch Instituts für die Jahre 2013/2014 (69 Jahre)^[67]. Auch die Verteilung der Patientinnen auf die entsprechenden FIGO-Stadien entsprach mit ca. 80 % der Patientinnen in Stadium I oder II den Angaben aus der Literatur (75 %) ^[19]. Orientiert man sich an der Klassifikation nach Bokhman, so sind 70 - 80 % der Tumore Typ I zuzuordnen. Hierbei handelt es sich um Tumore mit primär endometrioider Differenzierung ^[25]. In unserer Studie beträgt der Anteil der endometrioiden Endometriumkarzinome 83 %. Insgesamt lässt sich also feststellen, dass es sich bei dem betrachteten Patientenkollektiv um eine für das Endometriumkarzinom repräsentative Stichprobe handelt.

Auch bei der angewendeten Methodik handelt es sich um erprobte und standardisierte Verfahren. Die Herstellung von tissue microarrays (TMA) für die immunhistochemische Untersuchung von Proteinexpressionsmustern gilt als zuverlässige Methode ^[29, 174]. In einer Studie zum Mammakarzinom konnten bei der immunhistochemischen Untersuchung von Prognosemarkern sogar Vorteile bei der Untersuchung von TMA-Proben im Vergleich zu konventionellen „großen“ Gewebeschnitten festgestellt werden. Es zeigte sich

nicht nur, dass die Untersuchung der TMA-Proben für den gesamten Tumor repräsentativ, sondern bei Voraussagen über das Outcome der Patientinnen sogar überlegen war ^[212].

5.2 Prognosefaktoren beim Endometriumkarzinom

Als Standardtherapie eines fortgeschrittenen Endometriumkarzinoms sowie bei disseminierten Rezidiven wird im klinischen Alltag eine meist kombinierte, systemische Chemotherapie mit platinhaltigen Zytostatika empfohlen. Die Toxizität einer solchen chemotherapeutischen Behandlung ist jedoch nicht zu unterschätzen. Bei Rezidiven mit positivem Hormonrezeptor-Status (ER/PR) ist eine Hormontherapie mit Progesteron möglich, der therapeutische Effekt jedoch eher gering. Betrachtet man die begrenzten therapeutischen Möglichkeiten auch angesichts der steigenden Inzidenz des Endometriumkarzinoms, so wird der Bedarf an neuen, nebenwirkungsärmeren Therapieoptionen deutlich. Vergleicht man das Endometriumkarzinom mit anderen Tumorentitäten, so fällt auf, dass auf dem Gebiet der individualisierten, zielgerichteten Therapieansätze bislang wenig Fortschritte erzielt wurden^[143]. Es gibt jedoch einige Forschungsansätze für medikamentöse Therapieoptionen mit unterschiedlichen Zielstrukturen wie mTOR-Inhibitoren (Everolimus, Temsirolimus und Rapamycin), Anti-Angiogenese-Substanzen (Bevacizumab, Thalidomid) sowie anti-Her2 Immuntherapeutika^[130].

Bei einem möglichst individuellen und zielgerichteten Therapiekonzept ist das Wissen um die Prognose und mögliche Komorbiditäten der einzelnen Patientin essentiell. Für die Beurteilung der Prognose spielt der histopathologische Befund eine entscheidende Rolle. Zur genaueren Betrachtung der histopathologischen Risikofaktoren bietet sich eine Einteilung in uterine und nicht-uterine Prognosefaktoren an. Ist der Tumor bei Diagnosestellung auf den Uterus beschränkt, so wird die Prognose maßgeblich von drei histopathologischen Risikofaktoren bestimmt: dem histologischen Tumortyp, dem histologischen

Grading sowie der Tiefe der Myometriuminvasion^[165].

In dieser Studie wurde der Einfluss unterschiedlicher Prognosefaktoren auf das Überleben von Patientinnen mit Endometriumkarzinom untersucht.

Tumorklassifikation (FIGO, TNM)

Der wichtigste Prognosefaktor, der nicht nur für die Wahl der Therapie entscheidend ist, sondern auch das Überleben der Patientinnen signifikant beeinflusst, ist das Tumorstadium^[20, 146]. Bei einem Großteil der Patientinnen ist der Tumor bei Diagnosestellung auf den Uterus beschränkt (FIGO I). In etwa 75 % der Fälle liegt ein FIGO-Stadium I oder II vor. Hier beträgt das 5-Jahres-Überleben 74 - 91 %. In fortgeschrittenen Tumorstadien ist das 5-Jahres-Überleben jedoch deutlich schlechter. Im Stadium III beträgt es 57 - 66 % und im Stadium IV lediglich 20 - 26 %^[19]. Auch unsere Studie konnte eine Assoziation zwischen dem FIGO-Stadium und der Überlebenszeit nachweisen. Im Vergleich zu Patientinnen im FIGO-Stadium I zeigte sich bei jenen mit FIGO-Stadium II und III/IV ein deutlich verkürztes medianes Gesamtüberleben sowie ein signifikant erhöhtes Sterberisiko. Die 5-Jahres-Überlebensrate in unserer Studie betrug im FIGO-Stadium I/II 79,8 %, wohingegen sie im FIGO-Stadium III 37,5 % und FIGO-Stadium IV 25,1 % betrug. Betrachtet man zudem die TNM-Klassifikation, genauer das T-Stadium des Tumors als Ausdruck für die Ausdehnung des Primärtumors, so fällt in unserer Studie sowohl in der univariaten als auch in der multivariaten Analyse eine negative Korrelation mit dem Überleben der Patientinnen auf (siehe Kap. 4.2.1, S. 63).

Grading

Der prognostische Wert des histologischen Gradings zeigte sich in einer großen Studie aus den neunziger Jahren. Zaino et al. untersuchten mehr als 600 Patientinnen mit Endometriumkarzinomen in frühen Tumorstadien über einen Zeitraum von fünf Jahren. Dabei

zeigte sich, dass die 5-Jahres-Überlebensrate mit steigendem Grading sank (G1: 94 %, G2: 84 % G3: 72 %)^[235]. Auch in unserer Studie zeigte sich die prognostische Relevanz des histologischen Gradings sowohl in der univariaten als auch der multivariaten Analyse. Das Grading hatte in beiden Fällen einen signifikanten Einfluss auf die Überlebenszeiten (OAS, DFS). Besonders G3-Tumoren waren im Vergleich zu G1-Tumoren mit einer Verkürzung der Überlebenszeit assoziiert. Obwohl das histologische Grading mit anderen Tumorcharakteristika korreliert und nicht als unabhängiger Prognosefaktor anzusehen ist ^[2, 234], zeigen Studien, dass es selbst bei fortgeschrittener Tumorerkrankung eine prognostische Relevanz besitzt ^[113]. Während in vorherigen Arbeiten kein Zusammenhang zwischen dem histologischen Grading und Lymphknotenmetastasen hergestellt werden konnte^[191, 211, 215], zeigte sich in unserer Arbeit eine positive Korrelation zwischen dem Grading und Lymphknotenmetastasen. Möglicherweise ist für eine präzisere Voraussage der Prognose eine Modifikation des Grading-Systems nötig^[9, 113, 182]. Speziell das Grading der Zellkerne (NG) wird laut einigen Autoren in seiner Relevanz unterschätzt^[51, 145]. Bei der Beurteilung der Zellkernatypien scheinen grundsätzlich objektivere Definitionen und Bewertungskriterien notwendig^[211].

Histologischer Tumortyp

Der histologische Zelltyp des Endometriumkarzinoms gibt Aufschluss über das biologische Verhalten eines Tumors und gilt somit als wichtiger Prognosefaktor^[165]. Schon in der Klassifikation nach Bockhman ist die histologische Differenzierung ein wichtiges Unterscheidungskriterium zwischen dem prognostisch günstigen Typ I und dem deutlich weniger günstigen Typ II^[25]. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen in der univariaten Analyse ebenfalls eine signifikante Risikoerhöhung bei serös-papillärer Histologie gegenüber endometrioider Differenzierung. Dieses Ergebnis wird durch eine Studie von Miyamoto et al. über endometrioide Endometriumkarzinome mit serösen Anteilen unterstrichen. Hier zeigte sich eine seröse Tumorkomponente als Prädiktor für die Entwicklung eines

Rezidivs^[137]. Darüber hinaus sind Unterschiede zwischen den histologischen Typen von Bedeutung bei der Entwicklung von Target-Therapeutika. So weisen die unterschiedlichen Tumortypen verschiedene molekulare Veränderungen auf, die als Ansatzpunkte für eine zielgerichtete Therapie dienen könnten^[162].

Tiefe der Myometriuminvasion (DOI) und tumorfreie Distanz (TFD)

Die Bestimmung der Eindringtiefe des Tumors in das Myometrium ist beim präoperativen Staging der Patientinnen von besonderer Bedeutung. Eine Vielzahl von Studien zeigten eine enge Korrelation zwischen der Tiefe der Myometriuminvasion und dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen und einer damit einhergehenden schlechteren Prognose^[26, 112, 128, 165, 172]. In unserer Studie war eine tiefere Myoinvasion mit einem erhöhten Risiko für Lymphknotenmetastasen sowie einer Verkürzung der Überlebenszeit der Patientinnen vergesellschaftet. Laut einer Studie ist das Risiko für pelvine und paraaortale Lymphknotenmetastasen bei einer Myometriuminvasion von mehr als 50 % sechs- bis siebenfach erhöht^[112]. Aufgrund dieser deutlichen Risikosteigerung sollte neben anderen Risikofaktoren auch die Infiltrationstiefe ins Myometrium bei der Entscheidung für oder gegen eine pelvine und paraaortale Lymphknotendissektion Beachtung finden. Ab einer Myometriuminfiltration von mehr als 50 % sollte eine Lymphknotenentfernung durchgeführt werden, die im Verlauf zu einer Senkung der Mortalität führt^[127]. Im klinischen Alltag ist die sonographische Evaluation der Myometriuminvasionstiefe schwierig. Es gibt bereits viele Untersuchungen, die eine Objektivierung der Messmethoden anstreben, etwa mittels MRT oder CT^[47, 170, 176]. Es existieren allerdings Studien, in denen objektive Verfahren, wie eine MRT-Untersuchung keine Vorteile gegenüber einer sonographischen Untersuchung, sofern diese durch einen erfahrenen Untersucher erfolgte, zeigten^[13, 61, 133, 181]. Eine weitere Messgröße, die die Tumorausbreitung in die Tiefe bestimmt, ist die tumorfreie Distanz (TFD). Die Ergebnisse bezüglich der prognostischen Relevanz der TFD bzw. ihrer Überlegenheit im Vergleich zur DOI fallen unterschied-

lich aus. In einigen Studien zeigte sich die TFD hinsichtlich der Vorhersagekraft einer Lymphknotenbeteiligung, der Entwicklung eines Rezidivs und eines Versterbens der Patientinnen als überlegen^[33, 120, 183]. Im Gegensatz dazu konnten andere Studien eine stärkere Assoziation der DOI mit Lymphknotenmetastasen feststellen. Die TFD wiederum scheint laut Literatur für die Risikoeinschätzung einer Adnexe-beteiligung besser geeignet^[108, 150]. In der univariaten Analyse unserer Studie zeigte die Tiefe der Myometriuminvasion wie auch die tumorfreie Distanz zur Serosa jeweils einen signifikanten Einfluss auf das Überleben der Patientinnen.

Gefäß- und Lymphgefäßinvasion

In einer Studie aus dem Jahre 2004 konnte in einer multivariaten Analyse die voneinander unabhängige prognostische Bedeutung einer Gefäß- und Lymphgefäßinvasion nachgewiesen werden. Obwohl die Lymphgefäßinvasion mit einer Reihe ungünstiger histopathologischer Parameter korrelierte, zeigte sich die Blutgefäßinvasion als aussagekräftiger Prognosefaktor^[131]. Auch in unserer Studie waren in der univariaten Analyse sowohl die Gefäß- als auch die Lymphgefäßinvasion signifikante Prognosefaktoren. Betrachtet man das Gesamtüberleben, so war die Wahrscheinlichkeit zu versterben beim Vorliegen einer Gefäß- bzw. Lymphgefäßinvasion um mehr als das Zweifache erhöht. Für das krankheitsfreie Überleben ließen sich ähnliche Ergebnisse beobachten. Zudem konnte bereits in mehreren Studien eine Korrelation zwischen einer Lymphgefäßinvasion bzw. einer Invasion des Lymphgefäßraums (LVSI = lymphovascular space invasion) und Lymphknotenmetastasen beobachtet werden^[179, 209, 219]. In unserer Arbeit zeigte sowohl die Gefäß- als auch die Lymphgefäßinvasion einen signifikanten Zusammenhang mit einem positiven Nodalstatus (siehe Kap. 4.2.5, S. 69). Insgesamt handelt es sich bei der Invasion des Lymphgefäßraums (lymphovascular space invasion = LVSI) um einen aussagekräftigen Prognosefaktor für die Entwicklung eines Rezidivs, der besonders bei der Therapieentscheidung bezüglich einer systemischen Therapie herangezogen werden sollte und ande-

ren Risikofaktoren sogar überlegen sein könnte^[28, 223].

Lymphknotenmetastasen

Eine pelvine und paraaortale Lymphknotenbeteiligung gehört zu den Hauptrisikofaktoren für eine schlechte Prognose bei Patientinnen mit Endometriumkarzinom^[107]. Auch in dieser Studie führte ein Lymphknotenbefall zu einer Verkürzung des medianen Gesamtüberlebens. Obwohl die Internationale Vereinigung für Gynäkologie und Geburtshilfe (Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique - FIGO) ein komplettes chirurgisches Staging stadienabhängig inklusive der Entnahme der pelvinen und paraaortalen Lymphknoten empfiehlt, wird die paraaortale Lymphknotendisektion weiterhin kontrovers diskutiert^[186]. Eine aktuelle Metaanalyse zeigte, dass Frauen mit mittlerem oder hohem Rezidivrisiko von einer Kombination aus systematischer pelviner- und paraaortaler Lymphadenektomie profitieren. Diese Patientinnen zeigten ein besseres Outcome im Vergleich zur Kontrollgruppe bei der ausschließlich eine pelvine Lymphadenektomie durchgeführt wurde^[75]. Die Exploration der paraaortalen Lymphknoten ist zudem für die Planung einer adjuvanten Therapie, unter anderem zur Bestimmung des Bestrahlungsfeldes, durchaus entscheidend. Es gilt zu beachten, dass es durch fehlende Informationen über den Nodalstatus bzw. eine fehlende paraaortale Lymphadenektomie ggf. zu einer Untertherapie der betreffenden Patientinnen kommen kann^[132]. Andererseits existieren auch Studien bei denen bei Patientinnen mit geringem Risiko nach einer paraaortalen Lymphknotendisektion ausschließlich ein Anstieg der Morbidität und kein Überlebensvorteil festgestellt werden konnte^[74, 21, 95, 144].

Diabetes mellitus, arterieller Hypertonus und Fettleibigkeit bzw. BMI

Studien zeigten, dass ein Diabetes mellitus nicht nur das Risiko für die Entwicklung eines Endometriumkarzinoms erhöht, sondern sich auch negativ auf die Überlebenszeit der er-

kranken Patientinnen auswirkt^[41, 59, 60, 96, 121, 178, 194, 217]. Ein Erklärungsansatz, der allerdings noch einer genaueren Untersuchung bedarf, beschäftigt sich mit der Auswirkung der Aktivierung des Insulin-like growth factor-1 (IGF-1). Insulin und IGF-1 bewirken eine Hemmung der intrahepatischen Bildung des Sexualhormonbindenden Globulins (SHBG) und stimulieren gleichzeitig die Bildung von Androgenen. Insgesamt kommt es dadurch zu einem Überschuss von bioaktiven, ungebundenen Steroidhormonen^[93]. In dieser Arbeit hatte die Erkrankung mit Diabetes mellitus sowohl in der univariaten als auch in der multivariaten Analyse einen signifikanten Einfluss auf das Überleben der Patientinnen. Das Risiko im beobachteten Zeitraum zu versterben oder ein Rezidiv zu entwickeln war bei erkrankten Patientinnen circa doppelt so hoch wie bei der Vergleichsgruppe.

Der Einfluss eines arteriellen Hypertonus auf die Entwicklung eines Endometriumkarzinoms war lange Zeit unklar. Die Tatsache, dass Risikofaktoren für das Endometriumkarzinom wie Übergewichtigkeit und Diabetes mellitus ebenfalls Risikofaktoren für einen arteriellen Hypertonus darstellen, erschwerte die Untersuchungen und führte dazu, dass die Vergleichbarkeit der hierzu durchgeführten Studien nicht immer eindeutig gegeben war. Eine Metaanalyse aus dem Jahr 2017 stellte heraus, dass es sich beim arteriellen Hypertonus um einen Risikofaktor für das Endometriumkarzinom handelt, der das relative Erkrankungsrisiko um 61 % erhöht^[14]. Ob ein arterieller Hypertonus auch als Prognosefaktor beim Endometriumkarzinom dienen könnte, ist aufgrund mangelnder Arbeiten zu diesem Thema unklar. In der von uns durchgeführten Studie konnte kein Einfluss auf die Überlebenszeit der Patientinnen beobachtet werden.

Es ist zwar durch diverse Studien belegt, dass Übergewicht bzw. Fettleibigkeit einen Risikofaktor für die Entwicklung eines Endometriumkarzinoms darstellt, vergleicht man allerdings das Outcome von Übergewichtigen mit normalgewichtigen Patientinnen, so zeigte sich in mehreren Studien, dass der BMI keinen negativen Einfluss auf das Überleben hat^[7, 23, 91, 140, 168]. In einigen Studien konnte sogar ein Zusammenhang zwischen Übergewicht und dem Auftreten von weniger aggressiven, meist endometrioiden Adenokarzinomen in frühen Tumorstadien festgestellt werden^[12, 134, 140]. Übereinstimmend

mit der Mehrheit der Ergebnisse aus der Literatur war auch in unserer Studie kein Zusammenhang zwischen dem BMI der Patientinnen und ihrer Überlebenszeit nachweisbar. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die von uns untersuchten klinischen und pathologischen Faktoren weitestgehend eine Korrelation mit der Überlebenszeit der Patientinnen zeigten und daher, wie in der Literatur beschrieben, als Prognosefaktoren beim Endometriumkarzinom dienen können. So hatten das Tumorstadium, das histologische Grading, der histologische Tumortyp, die Myometriuminvasion und Tumordistanz zur Serosa, die Gefäß- und Lymphgefäßinvasion, der Nodalstatus und eine Erkrankung mit Diabetes mellitus, wenn auch teilweise nur in der univariaten Analyse, einen signifikanten Einfluss auf die Überlebenszeit der Patientinnen in dieser Studie. Dagegen zeigte weder eine Erkrankung mit einem arteriellen Hypertonus noch der BMI einen Zusammenhang mit dem Überleben der Patientinnen.

5.3 Carboanhydrase IX als Prognosefaktor beim Endometriumkarzinom

Die Assoziation von Carboanhydrasen mit diversen Tumorentitäten wurde vielfach beschrieben. Unter den verschiedenen Typen der Carboanhydrasen zeigt Carboanhydrase IX die stärkste Tumorassoziation. Auch ihre Rolle in der pH-Regulation der Tumorumgebung gilt als bewiesen^[156].

In vielen Studien konnte ein Zusammenhang zwischen CA IX und hypoxischen Tumorbedingungen sowie ein typisches perinekrotisches Verteilungsmuster derselben festgestellt werden. CA IX kann somit auch als Hypoxiemarker betrachtet werden^[6, 124, 147, 156]. Unter hypoxischen Bedingungen zeigen Tumorzellen Adaptationsmechanismen um ihr Überleben zu sichern. Es kommt zur Induktion verschiedener HIF-Zielgene, darunter auch CA IX. Die Expression von CA IX trägt zu einer Ansäuerung der Tumorumge-

bung bei, welche die Tumorzellen zu weiterem Wachstum stimuliert, gleichzeitig jedoch gesunde Zellen in ihrem Wachstum hemmt. CA IX schafft so einen Selektionsvorteil für Tumorzellen. Ebenfalls konnte gezeigt werden, dass eine Hemmung von CA IX das Wachstum und Überleben der Tumorzellen supprimiert. Insgesamt lässt sich feststellen, dass die durch Hypoxie induzierte Genexpression zu einem aggressiveren Tumorstadium mit schlechterem Outcome bei Tumorpatienten führt^[81].

Aus diesem Grund scheint es möglich, dass sich CA IX einerseits als diagnostischer oder sogar prognostischer Biomarker, andererseits aber auch als therapeutische Zielstruktur nutzen ließe^[155, 198, 216]. Obwohl einige Studien keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der CA IX-Expression und der Prognose bei Krebspatienten herstellen konnten, zeigte sich CA IX in der Mehrzahl der bisherigen Studien als Indikator für einen Tumorprogress und als unabhängiger Prädiktor für ein schlechtes Outcome der Patienten^[78, 196]. Ähnliche Erkenntnisse konnten u.a. in Studien über Brustkrebs, Gebärmutterhalskrebs, das nicht-kleinzellige Bronchialkarzinom, Blasenkrebs und Kopf-Hals-Tumoren gewonnen werden^[35, 40, 69, 82, 84, 103, 104, 110, 124, 193, 206, 207].

In dieser Arbeit wurde die Expression von CA IX im Tumorgewebe und Serum (s-CA IX) von Patientinnen mit Endometriumkarzinom mittels Immunhistochemie und ELISA bestimmt. Anschließend wurde deren prognostische Bedeutung (Gesamtüberleben, rezidivfreies Überleben) sowie mögliche Zusammenhänge mit bereits bekannten Prognosefaktoren untersucht.

Betrachtet man den Anteil der CA IX-positiven Tumore am Gesamtkollektiv, so fällt auf, dass dieser in unserer Studie mit nur etwa 22 % deutlich geringer ausfällt als in anderen Studien. In der Studie von Sadlecki et al. aus dem Jahre 2014 beträgt der CA IX-positive Anteil an Endometriumkarzinomen beispielsweise 89 %^[175]. Hynninen et al. untersuchte die CA IX-Expression in Ovarialkarzinomen mit unterschiedlicher histologischer Differenzierung. Die kräftigste Expression fand er im muzinösen Cystadenokarzinom. Hier konnte ein kräftiges Expressionsmuster in 57 % der Fälle festgestellt werden^[87]. Bei einer Studie über das klarzelligen Nierenzellkarzinom waren sogar über 90 % der Tumore

CA IX positiv^[213]. Die möglichen Fehlerquellen bei der histologischen Gewebeaufarbeitung und der immunhistochemischen Färbung sind vielfältig. Das methodische Vorgehen entsprach jedoch zu jedem Zeitpunkt standardisierten Verfahren, die durch erfahrene Fachkräfte durchgeführt wurden. Ein möglicher Einflussfaktor könnte sich allerdings aus dem Alter der Gewebeproben ergeben. Die ältesten Proben waren zum Zeitpunkt der immunhistochemischen Färbung 15 Jahre alt. Trotz der Ergebnisse von Sadlecki et al. besteht auch die Möglichkeit, dass es sich bei Endometriumkarzinomen um Tumore handelt, die im Vergleich zu anderen Tumorentitäten generell eine eher geringe CA IX-Expression zeigen. Um diese Frage zu klären sind weitere Untersuchungen zur CA IX-Expression im Endometriumkarzinom nötig.

Bereits mehrere Studien konnten eine erhöhte CA IX-Expression im Endometriumkarzinom im Vergleich zu gesundem Endometriumgewebe feststellen, wobei teilweise auch im gesunden Endometrium eine gewisse CA IX-Konzentration messbar war^[86, 232]. Untersuchungen zeigten, dass CA IX nur an bestimmten Zyklustagen während der Proliferationsphase nachweisbar war. Dies könnte auf eine Funktion von CA IX in der Zelladhäsion und während des Proliferationsprozesses hinweisen^[86, 166]. Da in unserer Analyse kein gesundes Vergleichsgewebe untersucht wurde, kann an dieser Stelle keine Aussage über die CA IX-Expression im Tumorgewebe im Vergleich zu gesundem Endometrium gemacht werden.

Zusammenhang zwischen CA IX und histopathologischen Prognosefaktoren

In dieser Arbeit konnte kein Zusammenhang zwischen der CA IX-Expression im Tumor und den untersuchten histopathologischen Prognosefaktoren wie dem Tumorstadium, dem Grading, dem histologischen Tumortyp, der Tiefe der Myometriuminvasion und Tumordistanz zur Serosa, der Gefäß- und Lymphgefäßinvasion, und dem Nodalstatus festgestellt werden (siehe Kap. 4.3, S. 72). Auch eine Erkrankung mit Diabetes mellitus

oder einem arteriellen Hypertonus sowie der BMI der Patientinnen zeigte keinen Zusammenhang mit der CA IX-Expression (siehe Kap. 4.2.7, S. 70).

Entsprechend dem Ergebnis dieser Arbeit konnte Hynninen et. al ebenfalls keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem CA IX-Expressionsmuster und dem Tumorstadium feststellen^[86].

Eine Forschungsgruppe um Pawel Sadlecki untersuchte ebenfalls die Zusammenhänge zwischen der CA IX-Expression im Primärtumor und verschiedenen klinischen und pathologischen Parametern wie dem Tumorstadium nach FIGO-Klassifikation, dem Grading, dem histologischen Typ, dem Lymphknotenbefall und anderen. Wie auch in unserer Studie konnte hier kein Zusammenhang festgestellt werden. Interessanterweise ließ sich in der Studie jedoch ein signifikanter Einfluss des Transkriptionsfaktors HIF-1 α auf das Rezidivrisiko feststellen. Je höher die HIF-1 α -Expression, desto höher war das Risiko ein Rezidiv zu entwickeln. In Bezug auf die verschiedenen histologischen Typen zeigten sich ebenfalls signifikante Unterschiede. Bei Tumoren mit eher ungünstiger Histologie zeigte sich eine höhere HIF-1 α -Expression als bei einer endometrioiden Differenzierung^[175]. Es gibt weitere Studien, die eine Beteiligung von HIF-1 α bei der Angiogenese im Endometriumkarzinom, sowie beim Tumorwachstum und der Tumorphysion zeigen^[30, 149, 175]. Auch eine Assoziation zwischen einer HIF-1 α -Expression und einer Radio- bzw. Chemotherapie-Resistenz konnte beobachtet werden. Betrachtet man diese Ergebnisse, so scheint HIF-1 α möglicherweise eine interessante Zielstruktur für neue Krebstherapeutika zu sein^[185]. Bisherige Ergebnisse von Studien bezüglich der prognostischen Bedeutung von HIF-1 α im Endometriumkarzinom sind allerdings kontrovers. Einige Autoren konnten einen Zusammenhang zwischen einer hohen HIF-1 α -Expression und einem verkürzten Gesamtüberleben bzw. einem verkürzten rezidivfreien Überleben feststellen, wohingegen andere HIF-1 α keine prognostische Relevanz zusprachen^[4, 68, 175, 184, 188]. Es lässt sich festhalten, dass neben der Bedeutung von CA IX auch die Rolle anderer Hypoxie-assoziiierter Faktoren, wie HIF-1 α im Endometriumkarzinom interessante Forschungsansätze darstellen. Generell gilt es detailliertere

Kenntnisse über die Signalwege unter hypoxischen Bedingungen im Endometriumkarzinom zu erlangen.

Prognostische Bedeutung CA IX im Endometriumkarzinom

In dieser Studie konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der CA IX-Expression im Tumor und dem Überleben der Patientinnen im Sinne eines Gesamtüberlebens und eines krankheitsfreien Überlebens festgestellt werden. Unsere Ergebnisse weisen dennoch auf einen Einfluss der CA IX-Expression hin. Das mediane Gesamtüberleben der Patientinnen mit CA IX-positiven vs. CA IX-negativen Tumoren betrug 88 Monate vs. 146 Monate. Das mediane krankheitsfreie Überleben der beiden Gruppen zeigte ähnliche Ergebnisse (siehe Kap. 4.3.2, S. 75). Das relativ kleine Patientenkollektiv sowie die noch deutlich geringere Anzahl der CA IX-positiven Tumore könnten zu dem nicht signifikanten Ergebnis geführt haben.

Bisher existieren nur wenige vergleichbare Studien zu diesem Thema. Eine Arbeitsgruppe um Pijnenborg et al. untersuchte die prognostische Bedeutung von CA IX bei Patientinnen mit rezidivierendem Endometriumkarzinom im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ohne Rezidiv. Bei den Patientinnen, die später ein Rezidiv entwickelten, konnte im Vergleich zur Kontrollgruppe kein signifikanter Unterschied in der CA IX-Expression im Primärtumor festgestellt werden^[161].

Freie CA IX im Serum (s-CAIX)

Bei 46 Patientinnen wurde präoperativ eine Serumprobe gewonnen und per ELISA die Konzentration der s-CA IX ermittelt. Es ergab sich eine Spannweite von 0 - 731,4 pg/ml mit einem Median von 183,6 pg/ml.

Die Messwerte der CA IX-Serumkonzentration in der gesunden Bevölkerung fallen uneinheitlich aus. In einer Studie über testikuläre Keimzelltumore ergaben sich Serumkonzentrationen von 405,2 pg/ml bei Patienten und 249,6 pg/ml bei der Kontrollgruppe^[94]. In einer anderen Studie werden für Patienten mit Nicht-kleinzelligem Bronchialkarzinom bzw. für die gesunde Kontrollgruppe Mittelwerte von 45,40 pg/ml und 2,48 pg/ml angegeben^[88]. Es zeigt sich also eine starke Varianz der mittleren s-CA IX-Konzentrationen bei verschiedenen Tumorentitäten. Für das Endometriumkarzinom gibt es bis dato keine Studien zu diesem Thema. Entsprechend steht uns kein auf alle Tumorentitäten gleichsam anwendbarer Referenzwert zur Verfügung. Durch die fehlende Vergleichbarkeit ist die Interpretation unserer Ergebnisse erschwert.

Die publizierten Daten, die sich auf die prognostische Relevanz der s-CA IX bei Tumorpatienten beziehen, sind bislang überschaubar. Diese Studie ist die erste, die sich mit der CA IX-Konzentration im Serum von Patientinnen mit Endometriumkarzinom und ihrer prognostischen Bedeutung beschäftigt.

In dieser Arbeit konnte kein statistischer Zusammenhang zwischen der s-CA IX-Konzentration und der Überlebenszeit festgestellt werden. Unsere Ergebnisse legen trotzdem einen gewissen Zusammenhang nahe. Aufgrund der geringen Anzahl der Serumproben konnte jedoch keine Signifikanz erreicht werden. Es konnte weder ein Zusammenhang zwischen der s-CA IX und der intratumoralen CA IX noch eine Assoziation der Serumkonzentration mit anderen prognostischen Markern nachgewiesen werden. Serumkonzentrationen einer gesunden Vergleichsgruppe standen nicht zur Verfügung.

In der Literatur existieren einige Studien zu anderen Tumorentitäten, die einen Zusammenhang zwischen der Konzentration von CA IX im Serum und der Konzentration im Tumor bzw. bekannten prognostischen Faktoren zeigen.

In einer Studie von Zhou et al. konnte eine Korrelation zwischen der CA IX-Expression im Serum und im Tumor bei Patienten mit klarzelligem Nierenzellkarzinom beobachtet werden. Die CA IX-Expression im Serum war bei Patienten mit klarzelligem Nierenzellkarzinom signifikant höher als bei gesunden Patienten. Des Weiteren korrelierte die

CA IX-Serumkonzentration mit der Tumorgröße^[240]. Auch in einer Studie zum Vulvakarzinom konnte ein Zusammenhang zwischen einer hohen s-CA IX-Serumkonzentration und einer hohen intratumoralen Konzentration nachgewiesen werden. Eine hohe s-CA IX-Konzentration im Serum ging in dieser Studie auch mit einer schlechteren Prognose einher^[106]. Eine Studie zu testikulären Keimzelltumoren konnte ebenfalls einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Expression der s-CA IX und der CA IX im Tumor zeigen. Eine prognostische Relevanz, also ein Zusammenhang zwischen s-CA IX und progressionsfreiem- oder Gesamtüberleben, konnte dort allerdings nicht festgestellt werden^[94]. Im Jahre 2016 veröffentlichten Smith et al. eine Studie zum kastrationsresistenten Prostatakarzinom (CRPC). Hier zeigte sich eine Assoziation zwischen einer höheren s-CA IX vor der Chemotherapie mit einem schlechteren Gesamtüberleben. Man stellte die Hypothese auf, dass Tumorphoxie, hier durch erhöhte CA IX-Werte gemessen, zu einem aggressiveren Prostatakarzinom-Phänotyp mit schlechterem Überleben führt^[190].

Andererseits existieren auch Studien, wie beispielsweise von Woelber et al. zum Zervixkarzinom, die entsprechend den Ergebnissen unserer Studie keine Korrelation zwischen der CA IX-Expression im Serum und Tumorgewebe feststellten. Auch eine Assoziation zwischen CA IX im Serum und histopathologischen Prognosefaktoren konnte hier nicht festgestellt werden^[229].

Um die Bedeutung der gelösten Carboanhydrase im Serum von Tumorpatienten weiter erforschen zu können, wären Erkenntnisse hinsichtlich ihrer biologischen Funktion, über die derzeit nicht viel bekannt ist, hilfreich.

CA IX in anderen gynäkologischen Tumoren

Vergleicht man bisherige Forschungsergebnisse bzgl. der Rolle der intratumoralen- bzw. s-CA IX im Endometriumkarzinom mit ihrer Bedeutung in anderen gynäkologischen Tu-

moren, zeichnet sich bezüglich der Relevanz als prognostischer Parameter eine gewisse Tendenz ab. Im Vulva- und Zervixkarzinom beispielsweise konnte eine Assoziation zwischen der CA IX-Expression im Tumor und bereits bekannten chirurgisch-pathologischen Prognosefaktoren festgestellt werden^[37, 102, 119, 229]. Ein Zusammenhang zwischen der intratumoralen CA IX-Expression und der Überlebenszeit der Tumorpatientinnen konnte in Studien zum Ovarial-, Zervix- und Mammakarzinom gezeigt werden^[36, 66, 85, 119, 124]. Auf der Grundlage dieser Erkenntnisse, wäre es denkbar, dass CA IX zukünftig eine Rolle in der Diagnostik und Therapie spielen könnte. In einer Studie von Kock et al. konnte ein Einfluss einer erhöhten s-CA IX-Serumkonzentration auf die Prognose von Patientinnen mit Vulvakarzinom beobachtet werden^[106]. In diesem Zusammenhang wäre es denkbar, die CA IX-Konzentration im Serum bei der Entscheidungsfindung hinsichtlich einer adjuvanten Therapie als Indikator für ein intensiveres therapeutisches Vorgehen hinzuzuziehen^[106]. In einer Studie zum Ovarialkarzinom wurde die Frage untersucht, ob die s-CA IX-Serumkonzentration im Rahmen einer Art Therapiemonitoring ein Therapieansprechen anzeigen könnte. Die Bestimmung der s-CA IX-Konzentrationen im Verlauf einer Erstlinientherapie zeigte jedoch keine signifikanten Konzentrationsveränderungen. Demnach scheint eine Bestimmung der CA IX-Konzentration im Serum zum Therapiemonitoring hier nicht sinnvoll^[228]. Loncaster et al. stellten in einer Studie mit Zervixkarzinompatientinnen fest, dass die Tumor-assoziierte Carboanhydrase IX mit dem Hypoxielevel des Tumors korreliert. Mit Hilfe der CA IX-Bestimmung wäre es dadurch möglich, jene Patientinnen zu erkennen, die von einer Therapie profitieren, die besonders auf die hypoxischen Bedingungen abzielt^[124]. Beim Mammakarzinom existiert bereits der weiterführende Ansatz Carboanhydraseinhibitoren in ein mögliches Therapiekonzept zu integrieren. Eine Studie aus dem Jahr 2016 beschrieb den hemmenden Effekt eines Benzensulfonamids (VD1142) auf die katalytische Aktivität von Carboanhydrase IX in Brustkrebszellen. Dieser Umstand könnte ggfs. im Rahmen einer gezielten Krebstherapie eingesetzt werden^[97]. Ivanova et al. zeigten eine Assoziation zwischen der CA IX mRNA-Expression in Brusttumoren und einem schlechteren Überleben besonders bei Patientin-

nen mit triple negativen Tumoren. Des Weiteren konnte die Studie belegen, dass die Behandlung mit einem Carboanhydraseinhibitor die Selbsterneuerungskapazität der Krebszellen reduziert und synergistisch mit einer Chemotherapie mit Doxorubicin wirkt^[89].

Eine Schwierigkeit dieser Studie liegt in der geringen Anzahl der CA IX-positiven Tumorproben. Weitere Studien mit möglichst großem Patientenkollektiv müssen klären, ob es sich hierbei um methodische Mängel oder ein Charakteristikum des Endometriumkarzinoms handelt.

Laut Sadlecki et al. liegt die Bedeutung von CA IX in den frühen Stadien der Karzinogenese. Während des „metabolic shifts“, der Umstellung des Stoffwechsels der Krebszellen von aerober auf anaerobe Glykolyse und der damit einhergehenden Laktatbildung, spielt sie eine entscheidende Rolle. Möglicherweise könnte die CA IX-Expression so bei der Unterscheidung zwischen benignen und malignen Gewebeveränderungen hilfreich sein^[175]. Neben Fragestellungen, die sich auf die Eignung von CA IX zur Nutzung im klinischen Alltag beziehen, scheinen daher auch theoretischere Forschungsansätze sinnvoll, die sich zunächst noch genauer mit der Rolle und Funktion von CA IX während der Onkogenese und Tumorprogression beschäftigen.

Möglicherweise liegt der klinische Nutzen von CA IX nicht in der isolierten Betrachtung, sondern eher in der Kombination mit anderen bekannten Prognosefaktoren. So verglich eine aktuelle Arbeit von Reijnen et al. das Outcome von Patienten, welche gleichzeitig eine erhöhte Expression von CA IX als Hypoxie- und CD34 als Neoangiogenesemarker zeigten, mit jenen bei denen jeweils nur CA IX oder CD34 vermehrt exprimiert wurden. Die Arbeitsgruppe kam zu dem Ergebnis, dass vor allem das gleichzeitige Vorliegen beider Faktoren das Outcome besonders negativ beeinflusste^[169].

Generell ist eine detailliertere Kenntnis der molekularen Vorgänge bei Hypoxie ein wichtiges Forschungsziel. Speziell die Bedeutung des HIF1-Signalwegs in der Karzinogenese des Endometriumkarzinoms wäre ein interessanter Forschungsansatz und würde möglicherweise zu weiterführenden Erkenntnissen über die Rolle von CA IX im Endometriumkarzinom führen^[156, 232].

6 Zusammenfassung

Diese Arbeit beschäftigt sich sowohl mit bekannten klinisch-pathologischen Prognosefaktoren als auch mit der Bedeutung von CA IX und s-CA IX für das Überleben von Patientinnen mit Endometriumkarzinom. CA IX gilt als Hypoxiemarker, der in diversen Tumorentitäten mit aggressivem Tumorwachstum, vermehrter Metastasenbildung und einem insgesamt schlechteren Überleben assoziiert ist^[156]. Klinische Informationen entstammen dem Operationsbericht, dem pathologischen Befund oder der Patientenakte. Um den weiteren Krankheitsverlauf der Patientinnen zu verfolgen, wurde ein telefonisches Follow-up durchgeführt. Für die immunhistochemische Untersuchung standen Tumorproben von 157 Patientinnen zur Verfügung. Die intratumorale CA IX-Expression wurde anhand eines vierstufigen Bewertungssystems ermittelt. Anschließend wurden die Tumorproben entsprechend ihres Expressionsmusters in CA IX-positiv vs. CA IX-negativ unterteilt. Der Anteil der CA IX-positiven Tumoren betrug 21,7 %. Zusätzlich wurde in Serumproben von 46 Patientinnen die Konzentration der gelösten Isoform der CA IX (s-CA IX) mittels ELISA bestimmt. Es ergab sich ein Median von 183,6 pg/ml. In der univariaten Analyse zeigten das Tumorstadium, das Grading, die Myometriuminvasion und die tumorfreie Distanz zur Serosa, der histologische Typ, die Gefäß- und Lymphgefäßinvasion, die Lymphknoten- und Fernmetastasen sowie ein Diabetes mellitus einen signifikanten Einfluss auf die Überlebenszeiten (OAS, DFS). Die intratumorale CA IX-Expression sowie die s-CA IX-Serumkonzentrationen hatten keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die Überlebenszeit der Patientinnen. Es konnte weder ein signifikanter Zusammenhang zwischen der intratumoralen CA IX-Expression noch der s-CA

IX-Konzentration und bekannten Prognosemarkern festgestellt werden. Auch CA IX und s-CA IX zeigten untereinander keine Korrelation.

Weitere Studien mit größerem Patientenkollektiv bzw. größerer Anzahl von CA IX-positiven Tumorproben werden notwendig sein, um detailliertere Zusammenhänge zwischen CA IX, Tumorprogression und Prognose zu zeigen.

Summary

This research deals with known clinical-pathological prognostic factors as well as with the influence of CA IX and s-CA IX on survival of patients with endometrial cancer. CA IX is considered a hypoxia marker associated with aggressive tumor growth, increased formation of metastases and in general poorer survival in various tumor entities^[156]. Clinical data are taken from the surgery report, the pathological findings or the patient records. In order to track the further development of the patients' disease, a telephone follow-up was conducted. Tumor samples from 157 patients were available for immunohistochemical examination. The intratumoral CA IX-expression was determined using a four-stage evaluation system. Subsequently, the tumor samples were divided into CA IX-positive vs. CA IX-negative according to their expression pattern. The proportion of CA IX-positive tumours was 21.7 %. In addition, the concentration of the soluble isoform of CA IX (s-CA IX) was determined by ELISA in serum samples of 46 patients. This resulted in a median of 183.6 pg/ml. In the univariate analysis, tumor stage, grading, myometrial invasion and tumor-free distance to the serosa, histological type, vascular and lymph vessel invasion, lymph node and distant metastases and diabetes mellitus showed a significant influence on survival (OAS, DFS). The intratumoral CA IX-expression and the s-CA IX-serum concentrations had no statistically significant influence on the survival of patients. No significant correlation between intratumoral CA IX-expression and s-CA IX-concentration and known prognosis markers could be found. CA IX and s-CA IX also

showed no correlation between each other.

Further studies with larger patient populations or larger numbers of CA IX-positive tumor samples will be necessary to show more detailed correlations between CA IX, tumor progression and prognosis.

Literaturverzeichnis

- [1] Abdelazim IA, Aboelezz A & Abdulkareem AF. Pipelle endometrial sampling versus conventional dilatation & curettage in patients with abnormal uterine bleeding. *J Turk Ger Gynecol Assoc* 14.1 (2013), 1–5.
- [2] Abeler VM, Kjorstad KE & Berle E. Carcinoma of the endometrium in Norway: a histopathological and prognostic survey of a total population. *Int J Gynecol Cancer* 2.1 (1992), 9–22.
- [3] Abeler VM, Vergote IB, Kjorstad KE & Trope CG. Clear cell carcinoma of the endometrium. Prognosis and metastatic pattern. *Cancer* 78.8 (1996), 1740–1747.
- [4] Acs G, Xu X, Chu C, Acs P & Verma A. Prognostic significance of erythropoietin expression in human endometrial carcinoma. *Cancer* 100.11 (2004), 2376–2386.
- [5] Adami HO, McLaughlin J, Ekblom A, Berne C, Silverman D, Hacker D & Persson I. Cancer risk in patients with diabetes mellitus. *Cancer Causes Control* 2.5 (1991), 307–314.
- [6] Airley RE, Loncaster J, Raleigh JA, Harris AL, Davidson SE, Hunter RD, West CM & Stratford IJ. GLUT-1 and CAIX as intrinsic markers of hypoxia in carcinoma of the cervix: relationship to pimonidazole binding. *Int J Cancer* 104.1 (2003), 85–91.

- [7] Akbayir O, Corbacioglu Esmer A, Numanoglu C, Cilesiz Goksedef BP, Akca A, Bakir LV & Kuru O. Influence of body mass index on clinicopathologic features, surgical morbidity and outcome in patients with endometrial cancer. *Arch Gynecol Obstet* 286.5 (2012), 1269–1276.
- [8] Ali AT. Reproductive factors and the risk of endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer* 24.3 (2014), 384–393.
- [9] Alkushi A, Abdul-Rahman ZH, Lim P, Schulzer M, Coldman A, Kalloger SE, Miller D & Gilks CB. Description of a novel system for grading of endometrial carcinoma and comparison with existing grading systems. *Am J Surg Pathol* 29.3 (2005), 295–304.
- [10] Altman DG, McShane LM, Sauerbrei W & Taube SE. Reporting Recommendations for Tumor Marker Prognostic Studies (REMARK): explanation and elaboration. *PLoS Med* 9.5 (2012), e1001216.
- [11] American College of O & Gynecologists. ACOG Committee Opinion No. 426: The role of transvaginal ultrasonography in the evaluation of postmenopausal bleeding. *Obstet Gynecol* 113.2 Pt 1 (2009), 462–464.
- [12] Anderson B, Connor JP, Andrews JI, Davis CS, Buller RE, Sorosky JI & Benda JA. Obesity and prognosis in endometrial cancer. *Am J Obstet Gynecol* 174.4 (1996), 1171–1179.
- [13] Antonsen SL et al. MRI, PET/CT and ultrasound in the preoperative staging of endometrial cancer - a multicenter prospective comparative study. *Gynecol Oncol* 128.2 (2013), 300–308.
- [14] Aune D, Sen A & Vatten LJ. Hypertension and the risk of endometrial cancer: a systematic review and meta-analysis of case-control and cohort studies. *Sci Rep* 7 (2017), 44808.

- [15] Barathova M et al. Alternative splicing variant of the hypoxia marker carbonic anhydrase IX expressed independently of hypoxia and tumour phenotype. *Br J Cancer* 98.1 (2008), 129–136.
- [16] Barry JA, Azizia MM & Hardiman PJ. Risk of endometrial, ovarian and breast cancer in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 20.5 (2014), 748–758.
- [17] Beasley NJ et al. Carbonic anhydrase IX, an endogenous hypoxia marker, expression in head and neck squamous cell carcinoma and its relationship to hypoxia, necrosis, and microvessel density. *Cancer Res* 61.13 (2001), 5262–5267.
- [18] Beavon IR. Regulation of E-cadherin: does hypoxia initiate the metastatic cascade? *Mol Pathol* 52.4 (1999), 179–188.
- [19] Bendifallah S et al. Patterns of recurrence and outcomes in surgically treated women with endometrial cancer according to ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference risk groups: Results from the FRANCOGYN study Group. *Gynecol Oncol* 144.1 (2017), 107–112.
- [20] Benedet JL, Bender H, Jones 3rd H, Ngan HY & Pecorelli S. FIGO staging classifications and clinical practice guidelines in the management of gynecologic cancers. FIGO Committee on Gynecologic Oncology. *Int J Gynaecol Obstet* 70.2 (2000), 209–262.
- [21] Benedetti Panici P et al. Systematic pelvic lymphadenectomy vs. no lymphadenectomy in early-stage endometrial carcinoma: randomized clinical trial. *J Natl Cancer Inst* 100.23 (2008), 1707–1716.
- [22] Berg JM et al. Stryer Biochemie. Springer Berlin Heidelberg, 2015, 89–90. ISBN: 9783827429896.
- [23] Billingsley CC, Cansino C, O'Malley DM, Cohn DE, Fowler JM, Copeland LJ, Backes FJ & Salani R. Survival outcomes of obese patients in type II endometrial

- cancer: Defining the prognostic impact of increasing BMI. *Gynecol Oncol* 140.3 (2016), 405–408.
- [24] Böcker W, Denk H, Heitz PU, Moch H, Höfler G & Kreipe H. Lehrbuch Pathologie. Elsevier Health Sciences Germany, 2012, 13. ISBN: 9783437590511.
- [25] Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 15.1 (1983), 10–17.
- [26] Boronow RC, Morrow CP, Creasman WT, Disaia PJ, Silverberg SG, Miller A & Blessing JA. Surgical staging in endometrial cancer: clinical-pathologic findings of a prospective study. *Obstet Gynecol* 63.6 (1984), 825–832.
- [27] Bree RL & Carlos RC. US for postmenopausal bleeding: consensus development and patient-centered outcomes. *Radiology* 222.3 (2002), 595–598.
- [28] Briet JM et al. Lymphovascular space involvement: an independent prognostic factor in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 96.3 (2005), 799–804.
- [29] Bubendorf L, Nocito A, Moch H & Sauter G. Tissue microarray (TMA) technology: miniaturized pathology archives for high-throughput in situ studies. *J Pathol* 195.1 (2001), 72–79.
- [30] Catalano RD, Wilson MR, Boddy SC, McKinlay AT, Sales KJ & Jabbour HN. Hypoxia and prostaglandin E receptor 4 signalling pathways synergise to promote endometrial adenocarcinoma cell proliferation and tumour growth. *PLoS One* 6.5 (2011), e19209.
- [31] Cecchi A, Hulikova A, Pastorek J, Pastorekova S, Scozzafava A, Winum JY, Montero JL & Supuran CT. Carbonic anhydrase inhibitors. Design of fluorescent sulfonamides as probes of tumor-associated carbonic anhydrase IX that inhibit isozyme IX-mediated acidification of hypoxic tumors. *J Med Chem* 48.15 (2005), 4834–4841.

- [32] Chamie K et al. Adjuvant Weekly Girentuximab Following Nephrectomy for High-Risk Renal Cell Carcinoma: The ARISER Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol* 3.7 (2017), 913–920.
- [33] Chattopadhyay S, Galaal KA, Patel A, Fisher A, Nayar A, Cross P & Naik R. Tumour-free distance from serosa is a better prognostic indicator than depth of invasion and percentage myometrial invasion in endometrioid endometrial cancer. *BJOG* 119.10 (2012), 1162–1170.
- [34] Chen HF, Liu MD, Chen P, Chen LH, Chang YH, Wen PC & Li CY. Risks of Breast and Endometrial Cancer in Women with Diabetes: A Population-Based Cohort Study. *PLoS One* 8.6 (2013), e67420.
- [35] Chia SK et al. Prognostic significance of a novel hypoxia-regulated marker, carbonic anhydrase IX, in invasive breast carcinoma. *J Clin Oncol* 19.16 (2001), 3660–3668.
- [36] Choschzick M, Oosterwijk E, Muller V, Woelber L, Simon R, Moch H & Tennstedt P. Overexpression of carbonic anhydrase IX (CAIX) is an independent unfavorable prognostic marker in endometrioid ovarian cancer. *Virchows Arch* 459.2 (2011), 193–200.
- [37] Choschzick M et al. Overexpression of carbonic anhydrase IX (CAIX) in vulvar cancer is associated with tumor progression and development of locoregional lymph node metastases. *Virchows Arch* 456.5 (2010), 483–490.
- [38] Clement PB & Young RH. Non-endometrioid carcinomas of the uterine corpus: a review of their pathology with emphasis on recent advances and problematic aspects. *Adv Anat Pathol* 11.3 (2004), 117–142.
- [39] Colombo N et al. ESMO-ESGO-ESTRO consensus conference on endometrial cancer: Diagnosis, treatment and follow-up. *Radiother Oncol* 117.3 (2015), 559–581.

- [40] Colpaert CG, Vermeulen PB, Fox SB, Harris AL, Dirix LY & Van Marck EA. The presence of a fibrotic focus in invasive breast carcinoma correlates with the expression of carbonic anhydrase IX and is a marker of hypoxia and poor prognosis. *Breast Cancer Res Treat* 81.2 (2003), 137–147.
- [41] Coughlin SS, Calle EE, Teras LR, Petrelli J & Thun MJ. Diabetes mellitus as a predictor of cancer mortality in a large cohort of US adults. *Am J Epidemiol* 159.12 (2004), 1160–1167.
- [42] Creasman W. Revised FIGO staging for carcinoma of the endometrium. *Int J Gynaecol Obstet* 105.2 (2009), 109.
- [43] Creasman WT, Kohler MF, Odicino F, Maisonneuve P & Boyle P. Prognosis of papillary serous, clear cell, and grade 3 stage I carcinoma of the endometrium. *Gynecol Oncol* 95.3 (2004), 593–596.
- [44] Creasman WT, Odicino F, Maisonneuve P, Beller U, Benedet JL, Heintz AP, Ngan HY & Pecorelli S. Carcinoma of the corpus uteri. *Int J Gynaecol Obstet* 83 Suppl 1 (2003), 79–118.
- [45] Creutzberg CL et al. Surgery and postoperative radiotherapy versus surgery alone for patients with stage-1 endometrial carcinoma: multicentre randomised trial. PORTEC Study Group. Post Operative Radiation Therapy in Endometrial Carcinoma. *Lancet* 355.9213 (2000), 1404–1411.
- [46] Dang CV & Semenza GL. Oncogenic alterations of metabolism. *Trends Biochem Sci* 24.2 (1999), 68–72.
- [47] Deng L, Wang QP, Yan R, Yu N, Bai L, Duan XY & Guo YM. Combined subjective and quantitative analysis of magnetic resonance images could improve the diagnostic performance of deep myometrial invasion in endometrial cancer. *Clin Imaging* 43 (2017), 69–73.

- [48] DiSaia PJ, Creasman WT, Boronow RC & Blessing JA. Risk factors and recurrent patterns in Stage I endometrial cancer. *Am J Obstet Gynecol* 151.8 (1985), 1009–1015.
- [49] Ditte P et al. Phosphorylation of carbonic anhydrase IX controls its ability to mediate extracellular acidification in hypoxic tumors. *Cancer Res* 71.24 (2011), 7558–7567.
- [50] Dubois L et al. Targeting carbonic anhydrase IX by nitroimidazole based sulfamides enhances the therapeutic effect of tumor irradiation: a new concept of dual targeting drugs. *Radiother Oncol* 108.3 (2013), 523–528.
- [51] Ebina Y et al. Para-aortic lymph node metastasis in relation to serum CA 125 levels and nuclear grade in endometrial carcinoma. *Acta Obstet Gynecol Scand* 81.5 (2002), 458–465.
- [52] Eddowes HA, Read MD & Codling BW. Pipelle: a more acceptable technique for outpatient endometrial biopsy. *Br J Obstet Gynaecol* 97.10 (1990), 961–962.
- [53] Emons G, Mallmann P & acting for the Uterus Commission of AGO. Recommendations for the Diagnosis and Treatment of Endometrial Cancer, Update 2013. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 74.3 (2014), 244–247.
- [54] Emons G, Steiner E, Bock N, Paradies K, Uleer C & Vordermark D. *S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge der Patientinnen mit Endometriumkarzinom (32/34-OL)*. Herausgegeben von Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe. AWMF. 2018. URL: <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/11/032-0340L.html> (besucht am 23.02.2020).
- [55] Epstein E, Ramirez A, Skoog L & Valentin L. Dilatation and curettage fails to detect most focal lesions in the uterine cavity in women with postmenopausal bleeding. *Acta Obstet Gynecol Scand* 80.12 (2001), 1131–1136.

- [56] Esposito K, Chiodini P, Capuano A, Bellastella G, Maiorino MI & Giugliano D. Metabolic syndrome and endometrial cancer: a meta-analysis. *Endocrine* 45.1 (2014), 28–36.
- [57] Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JW, Comber H, Forman D & Bray F. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer* 49.6 (2013), 1374–1403.
- [58] Fisher B et al. Tamoxifen for prevention of breast cancer: report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study. *J Natl Cancer Inst* 90.18 (1998), 1371–1388.
- [59] Folsom AR, Anderson KE, Sweeney C & Jacobs Jr. DR. Diabetes as a risk factor for death following endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 94.3 (2004), 740–745.
- [60] Friberg E, Orsini N, Mantzoros CS & Wolk A. Diabetes mellitus and risk of endometrial cancer: a meta-analysis. *Diabetologia* 50.7 (2007), 1365–1374.
- [61] Fruhauf F, Zikan M, Semeradova I, Dundr P, Nemejcova K, Dusek L, Cibula D & Fischerova D. The Diagnostic Accuracy of Ultrasound in Assessment of Myometrial Invasion in Endometrial Cancer: Subjective Assessment versus Objective Techniques. *Biomed Res Int* 2017 (2017), 1318203.
- [62] Furberg AS & Thune I. Metabolic abnormalities (hypertension, hyperglycemia and overweight), lifestyle (high energy intake and physical inactivity) and endometrial cancer risk in a Norwegian cohort. *Int J Cancer* 104.6 (2003), 669–676.
- [63] Gal D, Recio FO & Zamurovic D. The new International Federation of Gynecology and Obstetrics surgical staging and survival rates in early endometrial carcinoma. *Cancer* 69.1 (1992), 200–202.
- [64] Garg K & Soslow RA. Endometrial carcinoma in women aged 40 years and younger. *Arch Pathol Lab Med* 138.3 (2014), 335–342.

- [65] Gehrig PA, Groben PA, Fowler Jr. WC, Walton LA & Van Le L. Noninvasive papillary serous carcinoma of the endometrium. *Obstet Gynecol* 97.1 (2001), 153–157.
- [66] Generali D et al. Role of carbonic anhydrase IX expression in prediction of the efficacy and outcome of primary epirubicin/tamoxifen therapy for breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 13.3 (2006), 921–930.
- [67] Gesellschaft der Epidemiologischen Krebsregister in Deutschland. *Krebs in Deutschland für 2013/2014*. 2017. URL: https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/krebs_in_deutschland_inhalt.html (besucht am 17.01.2020).
- [68] Giatromanolaki A, Koukourakis MI, Gatter KC, Harris AL & Sivridis E. BNIP3 expression in endometrial cancer relates to active hypoxia inducible factor 1alpha pathway and prognosis. *J Clin Pathol* 61.2 (2008), 217–220.
- [69] Giatromanolaki A, Koukourakis MI, Sivridis E, Pastorek J, Wykoff CC, Gatter KC & Harris AL. Expression of hypoxia-inducible carbonic anhydrase-9 relates to angiogenic pathways and independently to poor outcome in non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 61.21 (2001), 7992–7998.
- [70] Goff BA et al. Uterine papillary serous carcinoma: patterns of metastatic spread. *Gynecol Oncol* 54.3 (1994), 264–268.
- [71] Goldsby RA, Kindt RA & Osborne BA. Immunology. W.H. Freeman, 2000, 162. ISBN: 9780716733317.
- [72] Gottwald L et al. [Endometrioid endometrial cancer—the prognostic value of selected clinical and pathological parameters]. *Ginekol Pol* 82.10 (2011), 743–748.
- [73] Grabmaier K et al. Molecular cloning and immunogenicity of renal cell carcinoma-associated antigen G250. *Int J Cancer* 85.6 (2000), 865–870.

- [74] Group A STUDY, Kitchener H, Swart AM, Qian Q, Amos C & Parmar MK. Efficacy of systematic pelvic lymphadenectomy in endometrial cancer (MRC ASTEC trial): a randomised study. *Lancet* 373.9658 (2009), 125–136.
- [75] Guo W, Cai J, Li M, Wang H & Shen Y. Survival benefits of pelvic lymphadenectomy versus pelvic and para-aortic lymphadenectomy in patients with endometrial cancer: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 97.1 (2018), e9520.
- [76] Han KH, Kim HS, Lee M, Chung HH & Song YS. Prognostic factors for tumor recurrence in endometrioid endometrial cancer stages IA and IB. *Medicine (Baltimore)* 96.21 (2017), e6976.
- [77] Harris AL. Hypoxia—a key regulatory factor in tumour growth. *Nat Rev Cancer* 2.1 (2002), 38–47.
- [78] Hedley D, Pintilie M, Woo J, Morrison A, Birlle D, Fyles A, Milosevic M & Hill R. Carbonic anhydrase IX expression, hypoxia, and prognosis in patients with uterine cervical carcinomas. *Clin Cancer Res* 9.15 (2003), 5666–5674.
- [79] Hilvo M et al. Biochemical characterization of CA IX, one of the most active carbonic anhydrase isozymes. *J Biol Chem* 283.41 (2008), 27799–27809.
- [80] Hockel M, Schlenger K, Hockel S & Vaupel P. Hypoxic cervical cancers with low apoptotic index are highly aggressive. *Cancer Res* 59.18 (1999), 4525–4528.
- [81] Hockel M & Vaupel P. Tumor hypoxia: definitions and current clinical, biologic, and molecular aspects. *J Natl Cancer Inst* 93.4 (2001), 266–276.
- [82] Hoogsteen IJ et al. Colocalization of carbonic anhydrase 9 expression and cell proliferation in human head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 11.1 (2005), 97–106.
- [83] Horree N, Diest PJ VAN, Sie-Go DM & Heintz AP. The invasive front in endometrial carcinoma: higher proliferation and associated derailment of cell cycle regulators. *Hum Pathol* 38.8 (2007), 1232–1238.

- [84] Hoskin PJ, Sibtain A, Daley FM & Wilson GD. GLUT1 and CAIX as intrinsic markers of hypoxia in bladder cancer: relationship with vascularity and proliferation as predictors of outcome of ARCON. *Br J Cancer* 89.7 (2003), 1290–1297.
- [85] Hussain SA et al. Hypoxia-regulated carbonic anhydrase IX expression is associated with poor survival in patients with invasive breast cancer. *Br J Cancer* 96.1 (2007), 104–109.
- [86] Hynninen P, Parkkila S, Huhtala H, Pastorekova S, Pastorek J, Waheed A, Sly WS & Tomas E. Carbonic anhydrase isozymes II, IX, and XII in uterine tumors. *APMIS* 120.2 (2012), 117–129.
- [87] Hynninen P et al. Expression of transmembrane carbonic anhydrases IX and XII in ovarian tumours. *Histopathology* 49.6 (2006), 594–602.
- [88] Ilie M et al. High levels of carbonic anhydrase IX in tumour tissue and plasma are biomarkers of poor prognostic in patients with non-small cell lung cancer. *Br J Cancer* 102.11 (2010), 1627–1635.
- [89] Ivanova L et al. Prognostic relevance of carbonic anhydrase IX expression is distinct in various subtypes of breast cancer and its silencing suppresses self-renewal capacity of breast cancer cells. *Cancer Chemother Pharmacol* 75.2 (2015), 235–246.
- [90] Janning M et al. Evaluation of soluble carbonic anhydrase IX as predictive marker for efficacy of bevacizumab: A biomarker analysis from the geparquinto phase III neoadjuvant breast cancer trial. *Int J Cancer* 145.3 (2019), 857–868.
- [91] Jeong NH et al. Role of body mass index as a risk and prognostic factor of endometrioid uterine cancer in Korean women. *Gynecol Oncol* 118.1 (2010), 24–28.
- [92] Jo MS, Choi OH, Suh DS, Yun MS, Kim SJ, Kim GH & Jeon HN. Correlation between expression of biological markers and [F]fluorodeoxyglucose uptake in endometrial cancer. *Oncol Res Treat* 37.1-2 (2014), 30–34.

- [93] Kaaks R & Lukanova A. Energy balance and cancer: the role of insulin and insulin-like growth factor-I. *Proc Nutr Soc* 60.1 (2001), 91–106.
- [94] Kalavaska K et al. Prognostic value of serum carbonic anhydrase IX in testicular germ cell tumor patients. *Oncol Lett* 12.4 (2016), 2590–2598.
- [95] Karube Y et al. Histopathological prognostic factors predicting para-aortic lymph node metastasis in patients with endometrioid uterine cancer. *Gynecol Oncol* 118.2 (2010), 151–154.
- [96] Kauppila A, Gronroos M & Nieminen U. Clinical outcome in endometrial cancer. *Obstet Gynecol* 60.4 (1982), 473–480.
- [97] Kazokaite J, Ames S, Becker HM, Deitmer JW & Matulis D. Selective inhibition of human carbonic anhydrase IX in *Xenopus* oocytes and MDA-MB-231 breast cancer cells. *J Enzyme Inhib Med Chem* 31.sup4 (2016), 38–44.
- [98] Kelly MG, O'Malley D M, Hui P, McAlpine J, Yu H, Rutherford TJ, Azodi M & Schwartz PE. Improved survival in surgical stage I patients with uterine papillary serous carcinoma (UPSC) treated with adjuvant platinum-based chemotherapy. *Gynecol Oncol* 98.3 (2005), 353–359.
- [99] Kelly MG et al. Patients with uterine papillary serous cancers may benefit from adjuvant platinum-based chemoradiation. *Gynecol Oncol* 95.3 (2004), 469–473.
- [100] Keys HM et al. A phase III trial of surgery with or without adjunctive external pelvic radiation therapy in intermediate risk endometrial adenocarcinoma: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 92.3 (2004), 744–751.
- [101] Kilgore JE, Jackson AL, Ko EM, Soper JT, Van Le L, Gehrig PA & Boggess JF. Recurrence-free and 5-year survival following robotic-assisted surgical staging for endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 129.1 (2013), 49–53.
- [102] Kim JY et al. Tumor-associated carbonic anhydrases are linked to metastases in primary cervical cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 132.5 (2006), 302–308.

- [103] Kim SJ, Rabbani ZN, Dewhirst MW, Vujaskovic Z, Vollmer RT, Schreiber EG, Oosterwijk E & Kelley MJ. Expression of HIF-1alpha, CA IX, VEGF, and MMP-9 in surgically resected non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 49.3 (2005), 325–335.
- [104] Kim SJ, Rabbani ZN, Vollmer RT, Schreiber EG, Oosterwijk E, Dewhirst MW, Vujaskovic Z & Kelley MJ. Carbonic anhydrase IX in early-stage non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 10.23 (2004), 7925–7933.
- [105] Kirkeby S & Moe D. Studies on the actions of glutaraldehyde, formaldehyde, and mixtures of glutaraldehyde and formaldehyde on tissue proteins. *Acta Histochem* 79.1 (1986), 115–121.
- [106] Kock L et al. Serum carbonic anhydrase IX and its prognostic relevance in vulvar cancer. *Int J Gynecol Cancer* 21.1 (2011), 141–148.
- [107] Kodama S, Kase H, Tanaka K & Matsui K. Multivariate analysis of prognostic factors in patients with endometrial cancer. *Int J Gynaecol Obstet* 53.1 (1996), 23–30.
- [108] Kondalsamy-Chennakesavan S, Vugt S VAN, Sanday K, Nicklin J, Land R, Perrin L, Crandon A & Obermair A. Evaluation of tumor-free distance and depth of myometrial invasion as prognostic factors for lymph node metastases in endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer* 20.7 (2010), 1217–1221.
- [109] Kosary CL. FIGO stage, histology, histologic grade, age and race as prognostic factors in determining survival for cancers of the female gynecological system: an analysis of 1973-87 SEER cases of cancers of the endometrium, cervix, ovary, vulva, and vagina. *Semin Surg Oncol* 10.1 (1994), 31–46.
- [110] Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Sivridis E, Simopoulos K, Pastorek J, Wykoff CC, Gatter KC & Harris AL. Hypoxia-regulated carbonic anhydrase-9 (CA9) relates to poor vascularization and resistance of squamous cell head and neck cancer to chemoradiotherapy. *Clin Cancer Res* 7.11 (2001), 3399–3403.

- [111] Krall N, Pretto F, Decurtins W, Bernardes GJ, Supuran CT & Neri D. A small-molecule drug conjugate for the treatment of carbonic anhydrase IX expressing tumors. *Angew Chem Int Ed Engl* 53.16 (2014), 4231–4235.
- [112] Larson DM, Connor GP, Broste SK, Krawisz BR & Johnson KK. Prognostic significance of gross myometrial invasion with endometrial cancer. *Obstet Gynecol* 88.3 (1996), 394–398.
- [113] Lax SF, Kurman RJ, Pizer ES, Wu L & Ronnett BM. A binary architectural grading system for uterine endometrial endometrioid carcinoma has superior reproducibility compared with FIGO grading and identifies subsets of advance-stage tumors with favorable and unfavorable prognosis. *Am J Surg Pathol* 24.9 (2000), 1201–1208.
- [114] Lee DO, Jung MH & Kim HY. Prospective comparison of biopsy results from curettage and hysteroscopy in postmenopausal uterine bleeding. *J Obstet Gynaecol Res* 37.10 (2011), 1423–1426.
- [115] Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): *Diagnostik, Therapie und Nachsorge der Patientinnen mit Endometriumkarzinom, Langversion 1.0, 2018, AWMF Registernummer: 032/034-OL*. URL: <https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/endometriumkarzinom/> (besucht am 02. 10. 2019).
- [116] Lewis BV, Stallworthy JA & Cowdell R. Adenocarcinoma of the body of the uterus. *J Obstet Gynaecol Br Commonw* 77.4 (1970), 343–348.
- [117] Li Q, Xie P & Qin X. Susac’s syndrome presenting with consciousness disturbance. *European journal of internal medicine* 19.3 (2008), 223.
- [118] Liao SY et al. Identification of the MN antigen as a diagnostic biomarker of cervical intraepithelial squamous and glandular neoplasia and cervical carcinomas. *Am J Pathol* 145.3 (1994), 598–609.

- [119] Liao SY et al. Prognostic relevance of carbonic anhydrase-IX in high-risk, early-stage cervical cancer: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 116.3 (2010), 452–458.
- [120] Lindauer J, Fowler JM, Manolitsas TP, Copeland LJ, Eaton LA, Ramirez NC & Cohn DE. Is there a prognostic difference between depth of myometrial invasion and the tumor-free distance from the uterine serosa in endometrial cancer? *Gynecol Oncol* 91.3 (2003), 547–551.
- [121] Lindemann K, Cvancarova M & Eskild A. Body mass index, diabetes and survival after diagnosis of endometrial cancer: A report from the HUNT-Survey. *Gynecol Oncol* 139.3 (2015), 476–480.
- [122] Linkov F, Edwards R, Balk J, Yurkovetsky Z, Stadterman B, Lokshin A & Taioli E. Endometrial hyperplasia, endometrial cancer and prevention: gaps in existing research of modifiable risk factors. *Eur J Cancer* 44.12 (2008), 1632–1644.
- [123] Liu FS. Molecular carcinogenesis of endometrial cancer. *Taiwan J Obstet Gynecol* 46.1 (2007), 26–32.
- [124] Loncaster JA et al. Carbonic anhydrase (CA IX) expression, a potential new intrinsic marker of hypoxia: correlations with tumor oxygen measurements and prognosis in locally advanced carcinoma of the cervix. *Cancer Res* 61.17 (2001), 6394–6399.
- [125] Lou Y et al. Targeting tumor hypoxia: suppression of breast tumor growth and metastasis by novel carbonic anhydrase IX inhibitors. *Cancer Res* 71.9 (2011), 3364–3376.
- [126] Lu KH et al. Gynecologic cancer as a "Bentinel cancer" for women with hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. *Obstet Gynecol* 105.3 (2005), 569–574.

- [127] Lucic N, Draganovic D, Sibincic S, Ecim-Zlojutro V & Milicevic S. Myometrium Invasion, Tumour Size and Lymphovascular Invasion as a Prognostic Factor in Dissemination of Pelvic Lymphatics at Endometrial Carcinoma. *Med Arch* 71.5 (2017), 325–329.
- [128] Ludwig H. Prognostic factors in endometrial cancer. *Int J Gynaecol Obstet* 49 Suppl (1995), S1–7.
- [129] Luo J et al. Association between diabetes, diabetes treatment and risk of developing endometrial cancer. *Br J Cancer* 111.7 (2014), 1432–1439.
- [130] Makker V, Green AK, Wenham RM, Mutch D, Davidson B & Miller DS. New therapies for advanced, recurrent, and metastatic endometrial cancers. *Gynecol Oncol Res Pract* 4 (2017), 19.
- [131] Mannelqvist M, Stefansson I, Salvesen HB & Akslen LA. Importance of tumour cell invasion in blood and lymphatic vasculature among patients with endometrial carcinoma. *Histopathology* 54.2 (2009), 174–183.
- [132] Mariani A, Dowdy SC, Cliby WA, Gostout BS, Jones MB, Wilson TO & Podratz KC. Prospective assessment of lymphatic dissemination in endometrial cancer: a paradigm shift in surgical staging. *Gynecol Oncol* 109.1 (2008), 11–18.
- [133] Mascilini F, Testa AC, Van Holsbeke C, Ameye L, Timmerman D & Epstein E. Evaluating myometrial and cervical invasion in women with endometrial cancer: comparing subjective assessment with objective measurement techniques. *Ultrasound Obstet Gynecol* 42.3 (2013), 353–358.
- [134] McCourt CK, Mutch DG, Gibb RK, Rader JS, Goodfellow PJ, Trinkaus K & Powell MA. Body mass index: relationship to clinical, pathologic and features of microsatellite instability in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 104.3 (2007), 535–539.
- [135] Mikuta JJ. International Federation of Gynecology and Obstetrics staging of endometrial cancer 1988. *Cancer* 71.4 Suppl (1993), 1460–1463.

- [136] Mittal KR, Schwartz PE & Barwick KW. Architectural (FIGO) grading, nuclear grading, and other prognostic indicators in stage I endometrial adenocarcinoma with identification of high-risk and low-risk groups. *Cancer* 61.3 (1988), 538–545.
- [137] Miyamoto M et al. Small Foci of Serous Component as a Predictor of Recurrence and Prognosis for Stage IA Endometrial Carcinomas. *Oncology* 93.1 (2017), 29–35.
- [138] Morrow CP, Bundy BN, Kurman RJ, Creasman WT, Heller P, Homesley HD & Graham JE. Relationship between surgical-pathological risk factors and outcome in clinical stage I and II carcinoma of the endometrium: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 40.1 (1991), 55–65.
- [139] Munstedt K, Grant P, Woenckhaus J, Roth G & Tinneberg HR. Cancer of the endometrium: current aspects of diagnostics and treatment. *World J Surg Oncol* 2 (2004), 24.
- [140] Munstedt K, Wagner M, Kullmer U, Hackethal A & Franke FE. Influence of body mass index on prognosis in gynecological malignancies. *Cancer Causes Control* 19.9 (2008), 909–916.
- [141] Murphy KT, Rotmensch J, Yamada SD & Mundt AJ. Outcome and patterns of failure in pathologic stages I-IV clear-cell carcinoma of the endometrium: implications for adjuvant radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 55.5 (2003), 1272–1276.
- [142] Nagamani M & Stuart CA. Specific binding and growth-promoting activity of insulin in endometrial cancer cells in culture. *Am J Obstet Gynecol* 179.1 (1998), 6–12.
- [143] National Cancer Institute. *Drugs Approved for Endometrial Cancer*. 2016. URL: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/drugs/endometrial> (besucht am 11.12.2019).

- [144] Nomura H et al. Analysis of clinicopathologic factors predicting para-aortic lymph node metastasis in endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer* 16.2 (2006), 799–804.
- [145] Nordstrom B, Strang P, Lindgren A, Bergstrom R & Tribukait B. Carcinoma of the endometrium: do the nuclear grade and DNA ploidy provide more prognostic information than do the FIGO and WHO classifications? *Int J Gynecol Pathol* 15.3 (1996), 191–201.
- [146] Odicino F, Pecorelli S, Zigliani L & Creasman WT. History of the FIGO cancer staging system. *Int J Gynaecol Obstet* 101.2 (2008), 205–210.
- [147] Olive PL, Aquino-Parsons C, MacPhail SH, Liao SY, Raleigh JA, Lerman MI & Stanbridge EJ. Carbonic anhydrase 9 as an endogenous marker for hypoxic cells in cervical cancer. *Cancer Res* 61.24 (2001), 8924–8929.
- [148] Oosterwijk E, Ruiter DJ, Hoedemaeker PJ, Pauwels EK, Jonas U, Zwartendijk J & Warnaar SO. Monoclonal antibody G 250 recognizes a determinant present in renal-cell carcinoma and absent from normal kidney. *Int J Cancer* 38.4 (1986), 489–494.
- [149] Orimo A et al. Cancer-associated myofibroblasts possess various factors to promote endometrial tumor progression. *Clin Cancer Res* 7.10 (2001), 3097–3105.
- [150] Ozbilen O, Sakarya DK, Bezircioglu I, Kasap B, Yetimalar H & Yigit S. Comparison of myometrial invasion and tumor free distance from uterine serosa in endometrial cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 16.2 (2015), 519–522.
- [151] Pacchiano F, Carta F, McDonald PC, Lou Y, Vullo D, Scozzafava A, Dedhar S & Supuran CT. Ureido-substituted benzenesulfonamides potently inhibit carbonic anhydrase IX and show antimetastatic activity in a model of breast cancer metastasis. *J Med Chem* 54.6 (2011), 1896–1902.

- [152] Pastorek J et al. Cloning and characterization of MN, a human tumor-associated protein with a domain homologous to carbonic anhydrase and a putative helix-loop-helix DNA binding segment. *Oncogene* 9.10 (1994), 2877–2888.
- [153] Pastorekova S, Casini A, Scozzafava A, Vullo D, Pastorek J & Supuran CT. Carbonic anhydrase inhibitors: the first selective, membrane-impermeant inhibitors targeting the tumor-associated isozyme IX. *Bioorg Med Chem Lett* 14.4 (2004), 869–873.
- [154] Pastorekova S, Parkkila S, Parkkila AK, Opavsky R, Zelnik V, Saarnio J & Pastorek J. Carbonic anhydrase IX, MN/CA IX: analysis of stomach complementary DNA sequence and expression in human and rat alimentary tracts. *Gastroenterology* 112.2 (1997), 398–408.
- [155] Pastorekova S, Parkkila S, Pastorek J & Supuran CT. Carbonic anhydrases: current state of the art, therapeutic applications and future prospects. *J Enzyme Inhib Med Chem* 19.3 (2004), 199–229.
- [156] Pastorekova S, Parkkila S & Zavada J. Tumor-associated carbonic anhydrases and their clinical significance. *Adv Clin Chem* 42 (2006), 167–216.
- [157] Pastorekova S, Ratcliffe PJ & Pastorek J. Molecular mechanisms of carbonic anhydrase IX-mediated pH regulation under hypoxia. *BJU Int* 101 Suppl (2008), 8–15.
- [158] Pastorekova S, Vullo D, Nishimori I, Scozzafava A, Pastorek J & Supuran CT. Carbonic anhydrase activators: activation of the human tumor-associated isozymes IX and XII with amino acids and amines. *Bioorg Med Chem* 16.7 (2008), 3530–3536.
- [159] Pastorekova S, Zavadova Z, Kostal M, Babusikova O & Zavada J. A novel quasi-viral agent, MaTu, is a two-component system. *Virology* 187.2 (1992), 620–626.

- [160] Perez-Lopez FR, Pasupuleti V, Gianuzzi X, Palma-Ardiles G, Hernandez-Fernandez W & Hernandez AV. Systematic review and meta-analysis of the effect of metformin treatment on overall mortality rates in women with endometrial cancer and type 2 diabetes mellitus. *Maturitas* 101 (2017), 6–11.
- [161] Pijnenborg JM, Wijnakker M, Hagelstein J, Delvoux B & Groothuis PG. Hypoxia contributes to development of recurrent endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 17.4 (2007), 897–904.
- [162] Piulats JM et al. Molecular approaches for classifying endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 145.1 (2017), 200–207.
- [163] Podratz KC & Mariani A. Uterine papillary serous carcinomas: the exigency for clinical trials. *Gynecol Oncol* 91.3 (2003), 461–462.
- [164] Potter CP & Harris AL. Diagnostic, prognostic and therapeutic implications of carbonic anhydrases in cancer. *Br J Cancer* 89.1 (2003), 2–7.
- [165] Prat J. Prognostic parameters of endometrial carcinoma. *Hum Pathol* 35.6 (2004), 649–662.
- [166] Punyadeera C et al. Expression and regulation of vascular endothelial growth factor ligands and receptors during menstruation and post-menstrual repair of human endometrium. *Mol Hum Reprod* 12.6 (2006), 367–375.
- [167] Ragozzino M, Melton 3rd LJ, Chu CP & Palumbo PJ. Subsequent cancer risk in the incidence cohort of Rochester, Minnesota, residents with diabetes mellitus. *J Chronic Dis* 35.1 (1982), 13–19.
- [168] Reeves KW, Carter GC, Rodabough RJ, Lane D, McNeeley SG, Stefanick ML & Paskett ED. Obesity in relation to endometrial cancer risk and disease characteristics in the Women’s Health Initiative. *Gynecol Oncol* 121.2 (2011), 376–382.
- [169] Reijnen C et al. Poor outcome in hypoxic endometrial carcinoma is related to vascular density. *British Journal of Cancer* 120.11 (2019), 1037–1044. ISSN: 1532-1827.

- [170] Rizzo S et al. Evaluation of deep myometrial invasion in endometrial cancer patients: is dual-energy CT an option? *Radiol Med* 123.1 (2018), 13–19.
- [171] Robertson G. Screening for endometrial cancer. *Med J Aust* 178.12 (2003), 657–659.
- [172] Rockall AG, Meroni R, Sohaib SA, Reynolds K, Alexander-Sefre F, Shepherd JH, Jacobs I & Reznick RH. Evaluation of endometrial carcinoma on magnetic resonance imaging. *Int J Gynecol Cancer* 17.1 (2007), 188–196.
- [173] Rose PG. Endometrial carcinoma. *N Engl J Med* 335.9 (1996), 640–649.
- [174] Ruiz C et al. Tissue microarrays for comparing molecular features with proliferation activity in breast cancer. *Int J Cancer* 118.9 (2006), 2190–2194.
- [175] Sadlecki P, Bodnar M, Grabiec M, Marszalek A, Walentowicz P, Sokup A, Zegarska J & Walentowicz-Sadlecka M. The role of Hypoxia-inducible factor-1 alpha , glucose transporter-1, (GLUT-1) and carbon anhydrase IX in endometrial cancer patients. *Biomed Res Int* 2014 (2014), 616850.
- [176] Sahin H, Sarioglu FC, Bagci M, Karadeniz T, Uluer H & Sancı M. Preoperative Magnetic Resonance Volumetry in Predicting Myometrial Invasion, Lymphovascular Space Invasion, and Tumor Grade: Is It Valuable in International Federation of Gynecology and Obstetrics Stage I Endometrial Cancer? *Int J Gynecol Cancer* 28.4 (2018), 666–674.
- [177] Sakamoto A, Hirai Y, Yamauchi K, Kitagawa T, Sugano H, Masubuchi K & Hashimi K. [Histology and prognosis of endometrial carcinoma]. *Gan No Rinsho* 33.15 (1987), 1897–1900.
- [178] Salazar-Martinez E, Lazcano-Ponce EC, Lira-Lira GG, Escudero-De los Rios P, Salmeron-Castro J, Larrea F & Hernandez-Avila M. Case-control study of diabetes, obesity, physical activity and risk of endometrial cancer among Mexican women. *Cancer Causes Control* 11.8 (2000), 707–711.

- [179] Sari ME, Yalcin I, Sahin H, Meydanli MM & Gungor T. Risk factors for paraaortic lymph node metastasis in endometrial cancer. *Int J Clin Oncol* 22.5 (2017), 937–944.
- [180] Saso S, Chatterjee J, Georgiou E, Ditri AM, Smith JR & Ghaem-Maghami S. Endometrial cancer. *BMJ* 343 (2011), d3954.
- [181] Savelli L et al. Preoperative local staging of endometrial cancer: transvaginal sonography vs. magnetic resonance imaging. *Ultrasound Obstet Gynecol* 31.5 (2008), 560–566.
- [182] Scholten AN, Smit VT, Beerman H, Putten WL VAN & Creutzberg CL. Prognostic significance and interobserver variability of histologic grading systems for endometrial carcinoma. *Cancer* 100.4 (2004), 764–772.
- [183] Schwab KV, O'Malley DM, Fowler JM, Copeland LJ & Cohn DE. Prospective evaluation of prognostic significance of the tumor-free distance from uterine serosa in surgically staged endometrial adenocarcinoma. *Gynecol Oncol* 112.1 (2009), 146–149.
- [184] Seeber LM, Horree N, Groep P VAN DER, Wall E VAN DER, Verheijen RH & Diest PJ VAN. Necrosis related HIF-1alpha expression predicts prognosis in patients with endometrioid endometrial carcinoma. *BMC Cancer* 10 (2010), 307.
- [185] Seeber LM, Zweemer RP, Verheijen RH & Diest PJ VAN. Hypoxia-inducible factor-1 as a therapeutic target in endometrial cancer management. *Obstet Gynecol Int* 2010 (2010), 580971.
- [186] Shepherd JH. Revised FIGO staging for gynaecological cancer. *Br J Obstet Gynaecol* 96.8 (1989), 889–892.
- [187] Sirisabya N et al. Is complete surgical staging necessary in clinically early-stage endometrial carcinoma? *Int J Gynecol Cancer* 19.6 (2009), 1057–1061.

- [188] Sivridis E, Giatromanolaki A, Gatter KC, Harris AL, Koukourakis MI, Tumor & Angiogenesis Research G. Association of hypoxia-inducible factors 1alpha and 2alpha with activated angiogenic pathways and prognosis in patients with endometrial carcinoma. *Cancer* 95.5 (2002), 1055–1063.
- [189] Sly WS & Hu PY. Human carbonic anhydrases and carbonic anhydrase deficiencies. *Annu Rev Biochem* 64 (1995), 375–401.
- [190] Smith AD, Truong M, Bristow R, Yip P, Milosevic MF & Joshua AM. The Utility of Serum CA9 for Prognostication in Prostate Cancer. *Anticancer Res* 36.9 (2016), 4489–4492.
- [191] Solmaz U et al. Lymphovascular space invasion and cervical stromal invasion are independent risk factors for nodal metastasis in endometrioid endometrial cancer. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 55.1 (2015), 81–86.
- [192] Sorosky JI. Endometrial cancer. *Obstet Gynecol* 120.2 Pt 1 (2012), 383–397.
- [193] Span PN, Bussink J, Manders P, Beex LV & Sweep CG. Carbonic anhydrase-9 expression levels and prognosis in human breast cancer: association with treatment outcome. *Br J Cancer* 89.2 (2003), 271–276.
- [194] Steiner E et al. Multivariate independent prognostic factors in endometrial carcinoma: a clinicopathologic study in 181 patients: 10 years experience at the Department of Obstetrics and Gynecology of the Mainz University. *Int J Gynecol Cancer* 13.2 (2003), 197–203.
- [195] Stiti M et al. Carbonic anhydrase inhibitor coated gold nanoparticles selectively inhibit the tumor-associated isoform IX over the cytosolic isozymes I and II. *J Am Chem Soc* 130.48 (2008), 16130–16131.
- [196] Stone JE, Parker R, Gilks CB, Stanbridge EJ, Liao SY & Aquino-Parsons C. Intratumoral oxygenation of invasive squamous cell carcinoma of the vulva is not correlated with regional lymph node metastasis. *Eur J Gynaecol Oncol* 26.1 (2005), 31–35.

- [197] Suarez AA, Felix AS & Cohn DE. Bokhman Redux: Endometrial cancer "types in the 21st century. *Gynecol Oncol* 144.2 (2017), 243–249.
- [198] Supuran CT. Carbonic anhydrases: novel therapeutic applications for inhibitors and activators. *Nat Rev Drug Discov* 7.2 (2008), 168–181.
- [199] Supuran CT. Structure-based drug discovery of carbonic anhydrase inhibitors. *J Enzyme Inhib Med Chem* 27.6 (2012), 759–772.
- [200] Supuran CT, Briganti F, Tilli S, Chegwiddden WR & Scozzafava A. Carbonic anhydrase inhibitors: sulfonamides as antitumor agents? *Bioorg Med Chem* 9.3 (2001), 703–714.
- [201] Supuran CT & Scozzafava A. Carbonic anhydrase inhibitors–Part 94. 1,3,4-thiadiazole-2-sulfonamidederivatives as antitumor agents? *Eur J Med Chem* 35.9 (2000), 867–874.
- [202] Supuran CT & Winum JY. Carbonic anhydrase IX inhibitors in cancer therapy: an update. *Future Med Chem* 7.11 (2015), 1407–1414.
- [203] Svastova E, Zilka N, Zat'ovicova M, Gibadulinova A, Ciampor F, Pastorek J & Pastorekova S. Carbonic anhydrase IX reduces E-cadherin-mediated adhesion of MDCK cells via interaction with beta-catenin. *Exp Cell Res* 290.2 (2003), 332–345.
- [204] Svastova E et al. Hypoxia activates the capacity of tumor-associated carbonic anhydrase IX to acidify extracellular pH. *FEBS Lett* 577.3 (2004), 439–445.
- [205] Swerdlow AJ, Jones ME & British Tamoxifen Second Cancer Study G. Tamoxifen treatment for breast cancer and risk of endometrial cancer: a case-control study. *J Natl Cancer Inst* 97.5 (2005), 375–384.
- [206] Swinson DE, Jones JL, Cox G, Richardson D, Harris AL & O'Byrne KJ. Hypoxia-inducible factor-1 alpha in non small cell lung cancer: relation to growth factor, protease and apoptosis pathways. *Int J Cancer* 111.1 (2004), 43–50.

- [207] Swinson DE et al. Carbonic anhydrase IX expression, a novel surrogate marker of tumor hypoxia, is associated with a poor prognosis in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 21.3 (2003), 473–482.
- [208] Tafe LJ, Riggs ER & Tsongalis GJ. Lynch syndrome presenting as endometrial cancer. *Clin Chem* 60.1 (2014), 111–121.
- [209] Taskin S et al. Nomogram with potential clinical use to predict lymph node metastasis in endometrial cancer patients diagnosed incidentally by postoperative pathological assessment. *Arch Gynecol Obstet* 296.4 (2017), 803–809.
- [210] Taylor RR, Zeller J, Lieberman RW & O'Connor DM. An analysis of two versus three grades for endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 74.1 (1999), 3–6.
- [211] Toptas T, Pestereli E, Bozkurt S, Erdogan G & Simsek T. Relationships of nuclear, architectural and FIGO grading systems in endometrial cancer. *J Turk Ger Gynecol Assoc* (2017).
- [212] Torhorst J et al. Tissue microarrays for rapid linking of molecular changes to clinical endpoints. *Am J Pathol* 159.6 (2001), 2249–2256.
- [213] Tostain J, Li G, Gentil-Perret A & Gigante M. Carbonic anhydrase 9 in clear cell renal cell carcinoma: a marker for diagnosis, prognosis and treatment. *Eur J Cancer* 46.18 (2010), 3141–3148.
- [214] Touisni N, Maresca A, McDonald PC, Lou Y, Scozzafava A, Dedhar S, Winum JY & Supuran CT. Glycosyl coumarin carbonic anhydrase IX and XII inhibitors strongly attenuate the growth of primary breast tumors. *J Med Chem* 54.24 (2011), 8271–8277.
- [215] Turan T, Hizli D, Sarici S, Boran N, Gundogdu B, Karadag B, Tulunay G & Kose MF. Is it possible to predict para-aortic lymph node metastasis in endometrial cancer? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 158.2 (2011), 274–279.

- [216] Uemura H, Nakagawa Y, Yoshida K, Saga S, Yoshikawa K, Hirao Y & Oosterwijk E. MN/CA IX/G250 as a potential target for immunotherapy of renal cell carcinomas. *Br J Cancer* 81.4 (1999), 741–746.
- [217] Vrachnis N et al. Diabetes mellitus and gynecologic cancer: molecular mechanisms, epidemiological, clinical and prognostic perspectives. *Arch Gynecol Obstet* 293.2 (2016), 239–246.
- [218] Wagenius G, Strang P, Bergstrom R, Stendahl U & Tribukait B. Prognostic indices in endometrial adenocarcinoma stages I and II. A study based on clinical, histopathological and flow cytometric variables. *Anticancer Res* 11.6 (1991), 2137–2142.
- [219] Wakayama A et al. Lymphatic vessel involvement is predictive for lymph node metastasis and an important prognostic factor in endometrial cancer. *Int J Clin Oncol* (2017).
- [220] Wang Y, Li J, Cragun J, Hatch K, Chambers SK & Zheng W. Lynch syndrome related endometrial cancer: clinical significance beyond the endometrium. *J Hematol Oncol* 6 (2013), 22.
- [221] Weiderpass E, Adami HO, Baron JA, Magnusson C, Lindgren A & Persson I. Use of oral contraceptives and endometrial cancer risk (Sweden). *Cancer Causes Control* 10.4 (1999), 277–284.
- [222] Weiderpass E, Gridley G, Persson I, Nyren O, Ekbom A & Adami HO. Risk of endometrial and breast cancer in patients with diabetes mellitus. *Int J Cancer* 71.3 (1997), 360–363.
- [223] Weinberg LE, Kunos CA & Zanotti KM. Lymphovascular space invasion (LVSI) is an isolated poor prognostic factor for recurrence and survival among women with intermediate- to high-risk early-stage endometrioid endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer* 23.8 (2013), 1438–1445.

- [224] Wideroff L, Gridley G, Møller H, Chow WH, Linet M, Keehn S, Borch-Johnsen K & Olsen JH. Cancer incidence in a population-based cohort of patients hospitalized with diabetes mellitus in Denmark. *J Natl Cancer Inst* 89.18 (1997), 1360–1365.
- [225] Wingo T, Tu C, Laipis PJ & Silverman DN. The catalytic properties of human carbonic anhydrase IX. *Biochem Biophys Res Commun* 288.3 (2001), 666–669.
- [226] Winum JY, Colinas PA & Supuran CT. Glycosidic carbonic anhydrase IX inhibitors: a sweet approach against cancer. *Bioorg Med Chem* 21.6 (2013), 1419–1426.
- [227] Winum JY, Rami M, Scozzafava A, Montero JL & Supuran C. Carbonic anhydrase IX: a new druggable target for the design of antitumor agents. *Med Res Rev* 28.3 (2008), 445–463.
- [228] Woelber L, Mueller V, Eulenburg C, Schwarz J, Carney W, Jaenicke F, Milde-Langosch K & Mahner S. Serum carbonic anhydrase IX during first-line therapy of ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 117.2 (2010), 183–188.
- [229] Woelber L et al. Carbonic anhydrase IX in tumor tissue and sera of patients with primary cervical cancer. *BMC Cancer* 11 (2011), 12.
- [230] Wolfson AH, Sightler SE, Markoe AM, Schwade JG, Averette HE, Ganjei P & Hilsenbeck SG. The prognostic significance of surgical staging for carcinoma of the endometrium. *Gynecol Oncol* 45.2 (1992), 142–146.
- [231] Wykoff CC et al. Hypoxia-inducible expression of tumor-associated carbonic anhydrases. *Cancer Res* 60.24 (2000), 7075–7083.
- [232] Yunokawa M et al. Differential regulation of DEC2 among hypoxia-inducible genes in endometrial carcinomas. *Oncol Rep* 17.4 (2007), 871–878.

- [233] Zaino RJ, Kurman RJ, Diana KL & Morrow CP. The utility of the revised International Federation of Gynecology and Obstetrics histologic grading of endometrial adenocarcinoma using a defined nuclear grading system. A Gynecologic Oncology Group study. *Cancer* 75.1 (1995), 81–86.
- [234] Zaino RJ, Kurman RJ, Diana KL & Morrow CP. Pathologic models to predict outcome for women with endometrial adenocarcinoma: the importance of the distinction between surgical stage and clinical stage—a Gynecologic Oncology Group study. *Cancer* 77.6 (1996), 1115–1121.
- [235] Zaino RJ, Kurman R, Herbold D, Gliedman J, Bundy BN, Voet R & Advani H. The significance of squamous differentiation in endometrial carcinoma. Data from a Gynecologic Oncology Group study. *Cancer* 68.10 (1991), 2293–2302.
- [236] Zavada J, Zavadova Z, Pastorek J, Biesova Z, Jezek J & Velek J. Human tumour-associated cell adhesion protein MN/CA IX: identification of M75 epitope and of the region mediating cell adhesion. *Br J Cancer* 82.11 (2000), 1808–1813.
- [237] Zavada J, Zavadova Z, Pastorekova S, Ciampor F, Pastorek J & Zelnik V. Expression of MaTu-MN protein in human tumor cultures and in clinical specimens. *Int J Cancer* 54.2 (1993), 268–274.
- [238] Zavada J, Zavadova Z, Zat’ovicova M, Hyrsi L & Kawaciuk I. Soluble form of carbonic anhydrase IX (CA IX) in the serum and urine of renal carcinoma patients. *Br J Cancer* 89.6 (2003), 1067–1071.
- [239] Zhang Y, Liu H, Yang S, Zhang J, Qian L & Chen X. Overweight, obesity and endometrial cancer risk: results from a systematic review and meta-analysis. *Int J Biol Markers* 29.1 (2014), e21–9.
- [240] Zhou GX, Ireland J, Rayman P, Finke J & Zhou M. Quantification of carbonic anhydrase IX expression in serum and tissue of renal cell carcinoma patients using enzyme-linked immunosorbent assay: prognostic and diagnostic potentials. *Urology* 75.2 (2010), 257–261.

Danksagung

Hiermit Danke ich Herrn Prof. Dr. Volkmar Müller für die Überlassung des Themas, die Förderung der vorliegenden Arbeit und die Begutachtung dieser Dissertation.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Frau Dr. Alma Müller-Rausch, die die wissenschaftliche Betreuung meines Dissertationsprojektes übernommen und dessen Fortgang durch zahlreiche Treffen, Fachdiskussionen und Ideen grundlegend gefördert hat. Vielen Dank für die freundschaftliche Unterstützung und Begleitung in den vergangenen Jahren!

Ann-Kathrin Ozga danke ich für die statistische Auswertung meiner Daten und für diverse Erklärungen der Ergebnisse.

Mein Dank gilt auch Herrn Dr. med. Matthias Choschzick für seine Hilfe in allen pathologischen Belangen und den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für Pathologie sowie des gynäkologischen Forschungslabors für die Durchführung des ELISAs.

Ferner danke ich Dr. Uwe Herwig für die Vermittlung der im Albertinen-Krankenhaus behandelten Patientinnen.

Mein größter Dank gilt meinem Ehemann Dr. Steffen Schöpfer ohne den es niemals Wirklichkeit geworden wäre.

Lebenslauf

Lebenslauf wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt

Eidesstattliche Versicherung

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

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

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

Unterschrift: