

PD-L1 Expression als Prognosemarker beim Endometriumkarzinom

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

Janina Halbe

aus Köln

2021

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Alexander Mustea
2. Gutachter: Prof. Dr. Ingo G. H. Schmidt-Wolf

Tag der Mündlichen Prüfung: 08.03.2021

Aus dem Zentrum für Geburtshilfe und Frauenheilkunde
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Alexander Mustea

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	7
1. Einleitung	8
1.1 Epidemiologie	9
1.2 Ätiologie	10
1.3 Symptome und Klinik	12
1.4 Pathologie	13
1.5 Klassifikationen	14
1.5.1 Klassifikation der Weltgesundheitsorganisation (WHO)	14
1.5.2 Klassifikation nach TNM und FIGO	14
1.6 Therapie	16
1.7 Komplikationen und Nebenwirkungen	19
1.8 Prognose und Prognose-abhängige Variablen	20
2. Material und Methoden	22
2.1 Patientenvorstellung	22
2.2 Herstellung des Tissue-Microarrays (TMA)	23
2.3 Immunhistochemische Färbung	25
2.4 Auswertung der Immunreaktionen	28
2.4.1 PD-L1	29
2.4.2 Ki-67	30
2.4.3 P16	30
2.4.4 CD3, CD20 und CD68	31
2.4.5 Östrogen- und Progesteronrezeptor	32

2.4.6	Her2/neu	32
2.5	Statistische Auswertemethode	32
3.	Ergebnisse	33
3.1	Epidemiologische Ergebnisse	33
3.1.1	Gruppengröße des Kollektivs	33
3.1.2	Alter	35
3.1.3	Body-Mass-Index (BMI)	36
3.1.4	Vorerkrankungen	37
3.1.5	Nikotin-Konsum	38
3.2	Überlebensraten in Abhängigkeit verschiedener Prognosefaktoren	39
3.2.1	Prognosefaktor histologischer Subtyp	39
3.2.2	Prognosefaktor Grading	42
3.2.3	Prognosefaktor Stadieneinteilung der TMN- + UICC- Klassifikation	45
3.2.4	Prognosefaktor Metastasierung	49
3.2.5	Prognosefaktor Lymphknotenstatus	51
3.2.6	Prognosefaktor Immunreaktionen	54
3.2.7	Prognosefaktor Lymphozyten-Infiltration	58
4.	Diskussion	64
5.	Zusammenfassung	68
6.	Abbildungsverzeichnis	71
7.	Tabellenverzeichnis	73
8.	Literaturverzeichnis	74
9.	Danksagung	83

Abkürzungsverzeichnis

BMI	Body-Mass-Index
EK	Endometriumkarzinom
FIGO	Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique
Grading	Differenzierungsgrad des Tumorgewebes
HE	Hysterektomie (operative Entfernung der Gebärmutter)
HNPCC	Hereditäres, nicht-polypöses Kolonkarzinom
KM-Kurve(n)	Kaplan-Meier-Kurve(n)
LK	Lymphknoten
LK-Status	Lymphknotenstatus
neg.	negativ
OP	Operation
OS	Gesamtüberleben (overall survival)
PCO-Syndrom	Polyzystisches Ovarialsyndrom
PD-L1	Programmed Cell Death Ligand 1
pos.	positiv
RF	Risikofaktor
RFS	Rezidiv-freies Überleben (relapse-free survival)
TMA	Tissue-Microarrays
UICC	Union internationale contre le cancer
WHO	Weltgesundheitsorganisation

1. Einleitung

Die Untersuchung von Zellmarkern in der Onkologie gehört aktuell in der Medizin zu einem der größten Forschungsgebiete. Vor allem die Therapie-Optimierung von Malignomen, deren Neuerkrankungs- und Sterberate eine globale Problematik darstellen, ist von großem internationalem Interesse. Hierzu sind die Erhebung und Auswertung von klinischen Daten von großer Notwendigkeit. Diese Arbeit befasst sich mit dem Endometriumkarzinom (EK), einer Krebserkrankung der Gebärmutter Schleimhaut. Das EK zählt zu dieser Gruppe von Malignomen. Dies ist vor allem im Sinne des demographischen Wandels und der im Alter steigenden Erkrankungshäufigkeit des EKs in Deutschland ein zu berücksichtigender Aspekt. (Emons et al., 2019; Kaatsch et al., 2017; Kiechle und Schlag; 2017).

Das EK ist nicht nur in Deutschland einer der häufigsten gynäkologischen Tumore, sondern spielt weltweit in der Gynäkologie eine Rolle. Die jährliche Inzidenz der Neuerkrankungsrate liegt global betrachtet bei 142.000 und nimmt somit weltweit die siebte Stelle der Malignomerkrankungen der Frau ein. Im Schnitt erkrankt eine von fünfzig Frauen in Deutschland an einem EK. Etwa 2.600 Sterbefälle werden in Deutschland pro Jahr aufgezeichnet (Kaatsch et al., 2017).

Ein Fokus der Krebsforschung im Gebiet der Zellmarker liegt auf der Untersuchung von Biomarkern. Dabei ist ihre diagnostische, prognostische und prädiktive Aussagekraft das Hauptinteressengebiet. Dies ist besonders für die Entwicklung von individualisierten Behandlungsverfahren essenziell (Pfarr et al., 2017).

Biomarker sind Zellrezeptoren, die eine Indikatorfunktion für biologische, pathologische oder pharmakologische Prozesse aufweisen. Ein Zellmarker wird nur dann als Biomarker angesehen und genutzt, wenn die Ergebnisse objektiv reproduzierbar sind (Azuaje; 2010).

Der Marker PD-L1 (Programmed Cell Death Ligand 1) gehört zu den am häufigsten genutzten Biomarkern. In seinem klinischen Einsatzgebiet ist er in der Immunonkologie fest etabliert. Seine immunhistochemische Expressionsrate hat in letzter Zeit zu einer Erweiterung seines Einsatzspektrums geführt. Biomarker sind in der Erforschung von wirksamen immunonkologischen Therapien, sofern der Tumor das Antigen exprimiert, von maßgebender Bedeutung. PD-L1 gehört zur Gruppe der Immun-Checkpoints. Diese

können Immunreaktionen beeinflussen, indem sie stimulierend oder dämpfend wirken. Tumorzellen können durch Expression von PD-L1 an den PD-1 Rezeptor der Immunzellen binden und dadurch die Immunzell-getriggerte Tumorzellzerstörung hemmen. Durch den Gebrauch von entsprechenden Antikörpern an den Checkpoints kann das Immunsystem wieder stimuliert werden, um Tumorzellen anzugreifen (Schildhaus, 2018).

Der Erfolg der Therapie hängt maßgebend davon ab, ob und in welcher Ausprägung der Tumor das Antigen aufweist. Diese grundlegende Fragestellung wird in dieser Arbeit beleuchtet. Dazu wird in Bezug auf die Erkrankung des EKs ein Patientinnen-Kollektiv von Frauen aus Deutschland untersucht. Ziel ist es herauszufinden, ob der Biomarker PD-L1 für das Gesamtüberleben der Patientinnen mit einem EK als prognostischer Marker genutzt werden kann. Zudem wird eine Einschätzung über die mögliche Entwicklung neuer Therapieoptionen für das EK auf Basis der PD-L1 Expression abgegeben.

1.1 Epidemiologie

Weltweit betrachtet ist das Endometriumkarzinom, besonders in den Industrieländern, ein häufig auftretender gynäkologischer Tumor. Der Ursprung des Tumors sitzt, wie der Name bereits andeutet, in der Gebärmutter Schleimhaut der Frau (Morice et al., 2016).

Das EK ist in Deutschland das häufigste Karzinom des weiblichen Genitaltraktes. Im Gegensatz zur globalen Rangliste, wo das Zervixkarzinom eine höhere Häufigkeit als das Endometriumkarzinom aufweist, steht das EK bei den geschlechtsspezifischen Karzinomen in Deutschland hinter dem Brustkrebs an zweiter Stelle. Die Inzidenzraten zeigen weltweit starke regionale Unterschiede. So sind in den letzten Jahren in den Vereinigten Staaten sowie in Osteuropa besonders hohe Inzidenzraten aufgezeichnet worden. Die folgenden Angaben beziehen sich auf die Inzidenz und das Auftreten des Endometriumkarzinoms in Deutschland. In der vorgestellten Studie wurden Frauen untersucht, die in Deutschland leben bzw. lebten und auch hier behandelt wurden. Zuvor genannte regionale Unterschiede bei Erkrankungs- und Sterberaten sind innerhalb Deutschlands kaum erkennbar. Die Inzidenz von Tumoren im Gebärmutterkörper wird

vom Robert-Koch-Institut im Jahre 2014 mit 10.680 Neuerkrankungen angegeben (Kaatsch et al., 2017).

Obwohl die Neuerkrankungsrate momentan leicht rückläufig ist, wird durch eine steigende Lebenserwartung in den folgenden Jahren eine zunehmende Inzidenz prognostiziert (Emons et al., 2019; Kaatsch et al., 2017). Dabei trägt der Häufigkeitsgipfel des EKs, der zwischen dem 60. und dem 70. Lebensjahr liegt, zur Prognosestellung bei. In Deutschland liegt das Lebenszeitrisiko am EK zu erkranken bei 2,1 %. Korpuskarzinome zählen unter den Krebserkrankungen zu denen mit einem prognostisch günstigeren Verlauf. Dies spiegelt ebenso die hohe Prozentzahl des relativen 5-Jahres-Überlebens mit 80 % wider (Kaatsch et al., 2017).

1.2 Ätiologie

Die Entstehung des EKs weist sowohl Risikofaktoren (RF) als auch protektive Faktoren auf. Da das EK zu den östrogenabhängigen Tumoren gehört, zählen langjährig hohe Östrogenspiegel ohne Gestagen-Schutz als Risikofaktor für die Tumorentstehung (Allen et al., 2010; Beral et al., 2005; Razavi, et al., 2010). Neben einer alleinigen menopausalen Hormontherapie mit Östrogenen erhöhen Langzeitanwendungen mit kontinuierlich-kombinierten oder sequenziell-kombinierten Hormontherapien ab einer Einnahmedauer mehr als 5 Jahren das Risiko für das Auftreten eines EKs (Razavi, et al., 2010).

Weiterhin spielt die langjährige Einnahme von Medikamenten, wie Tamoxifen oder Tibolon, bei der Risikoerhöhung eine Rolle (Ettinger et al., 2008, Nelson et al., 2013). Es kristallisierten sich auch unbeeinflussbare Faktoren, wie ein zunehmendes Alter, eine frühe Menarche oder eine späte Menopause, wenige Schwangerschaften oder eine Nulliparität als Faktoren mit einer schlechteren Prognose heraus (Schonfeld et al., 2013). Zu den nicht-beeinflussbaren Risikofaktoren zählt das Vorliegen eines Endometrium- oder Kolonkarzinoms in der Eigen- oder Familienanamnese (Win et al., 2015). Auch von sporadischen Mutationen, die in ca. 5 % der Fälle als Ursache gefunden werden, sind Patientinnen nicht ausgeschlossen (Koh et al., 2018). Zusätzlich zu den bereits genannten Risikofaktoren gehen die folgenden Erkrankungen, wie das Vorliegen eines PCO-Syndroms (Haoula et al., 2012), ein Diabetes Mellitus (Zhang et al., 2013), das Vollbild

eines Metabolischen Syndroms (Espostio et al., 2012) oder ein HNPCC (Lynch Typ II) (Manchanda et al., 2012) mit einem erhöhten Risiko einher. Nicht zu vernachlässigen ist die Risikoerhöhung in Korrelation mit einem erhöhten Wert des Body-Mass-Index, wie die Studie von Ward et al. in den Vereinigten Staaten bereits 2010 erfasste (Cote et al., 2015; Ward et al., 2013).

Die protektiven Faktoren setzen sich, wie auch die Risikofaktoren, aus unterschiedlichen Aspekten zusammen. Ein Faktor, der von jeder Patientin für die Prävention des EKs genutzt werden kann, ist die körperliche Aktivität. Dabei ist der Effekt der Risikoreduktion abhängig vom individuellen Level an sportlicher Aktivität (Keum et al., 2013). Im Gegensatz zu hohen Östrogenspiegeln ohne Gestagen-Schutz zählen niedrige Östrogen- und hohe Gestagen- bzw. Progesteronspiegel als protektive Faktoren. Eine kontinuierlich-kombinierte Hormontherapie mit konjugierten equinen Östrogenen und Medroxyprogesteronacetat ist, wie die Einnahme eines oralen Kontrazeptivums, mit einem reduzierten Entstehungsrisikos eines EKs assoziiert (Chlebowski et al., 2015; Cote et al., 2015).

Die Anwendung von einem Intrauterinpeessar (IUP), insbesondere vom Levonorgestrel-IUP, zeigt eine Reduktion des Risikos (Felix et al., 2014; Soini et al., 2014).

In einer Studie von Setiawan (2012), die sich aus diversen Arbeiten zwischen 1979 - 2009 zusammensetzt, zeigte sich eine Risikoreduktion der EK-Inzidenz bei Frauen, die bei der Geburt ihres letzten Kindes bereits ein fortgeschrittenes Alter (> 35 Jahre) hatten.

Ebenso, wie ein fortgeschrittenes Alter bei der Geburt des letzten Kindes, wirkt sich ein spätes Menarchealter und viele Schwangerschaften risikosenkend auf das Auftreten eines EKs aus (Cote et al., 2015; Dossus et al., 2010). Das Rauchen weist im Gegensatz zu allen Faktoren sowohl einen risikoreduzierenden Anteil als auch einen risikosteigernden Anteil auf. Dabei wirkt sich die Reduktion des Risikos auf das EK Typ I und die Steigerung des Risikos auf den EK Typ II aus (Committee on Practice Bulletins-Gynecology et al., 2015). Auf die Differenzierung der beiden Typen des EKs wird im Kapitel Pathologie eingegangen.

1.3 Symptome und Klinik

Bevor das EK diagnostiziert ist, sind meist bereits erste Symptome aufgetreten. Zu diesen zählen unerklärbare uterine Blutungen oder vaginaler Ausfluss sowie Schmerzen oder ein Spannungsgefühl im Bauch. Zu diesen abnormen Blutungen zählen unter anderem postmenopausale sowie atypische perimenopausale oder auch prämenopausale Blutungen. Letztere manifestieren sich zum Teil auch als Dauerblutung. Insbesondere ein Gewichtsverlust oder das Gefühl von Lethargie können erste Hinweise auf die Erkrankung sein. Im fortgeschrittenen Stadium klagen die Patientinnen über Veränderungen des Stuhlverhaltens sowie Probleme beim Wasserlassen (Burke et al., 2014; Salani et al., 2011). Die am häufigsten beschriebene Klinik ist eine atypische vaginale Blutung, diese tritt in über 90 % bei Frauen im Alter ab 50 Jahren auf (Colombo et al., 2013).

Obwohl das EK zu einem der wenigen Tumore gehört bei dem ca. 80 % der Tumore bereits im T1 Stadium entdeckt werden, gibt es keine effektive Vorsorgeuntersuchung, die für asymptomatische Frauen empfohlen werden. Daher beruht die frühe Diagnosestellung auf dem zeitnahen Auftreten der ersten Symptome. Bei symptomatischen Patientinnen mit abnormen uterinen Blutungen, ohne zusätzliche Risikofaktoren (im Kapitel Ätiologie zu finden), wird zunächst ein konservativer Therapieversuch gestartet. Falls dieser jedoch erfolglos bleibt oder die Patientin Risikofaktoren aufweist, ist eine Kombination aus Hysteroskopie mit einer Probengewinnung der Goldstandard. Für die Probengewinnung wird eine fraktionierte Abrasio (Ausschabung) der Gebärmutter durchgeführt (Emons et al., 2019). Eine Abrasio ist bei Patientinnen mit sonographisch diagnostizierter Endometriumdicke ab > 3 mm indiziert (Timmermanns et al., 2010).

Patientinnen mit nachgewiesenem genetischem Risiko wird ab dem 35. Lebensjahr bei bestehendem Kinderwunsch empfohlen zusätzlich zum transvaginalen Ultraschallschall, jährlich eine Endometriumpipelle (Strichkürettage) mit Endometriumbiopsie im Rahmen der intensivierten Früherkennung durchführen zu lassen. Bei abgeschlossenem Kinderwunsch insbesondere nach dem 40. Lebensjahr sollte die Option einer risikoreduzierten Hysterektomie erwogen werden (Vasen et al., 2013).

1.4 Pathologie

Der Ursprung pathologischer Veränderungen beruht beim EK auf einer Vielzahl unterschiedlicher Ursachen. Dazu zählen unter anderem biologische, wie das Alter, oder erbliche Faktoren, ebenso wie histologische Veränderungen (Silverberg et al., 2003). Die Klassifizierung des EKs basiert größtenteils auf den histologischen Unterschieden. Der Hormon-Rezeptor-Status und die Differenzierung in gut differenziertes bösartiges Gewebe (low-grade) und mäßig bzw. schlecht differenziertes bösartiges Gewebe (high-grade) spielen dabei eine Rolle (Morice et al., 2016). Die histologischen Einstufungen wurden bereits von Bohkman (1983), sowie später von Lax et al. (2002) beschrieben. Dabei fand durch die histologische Auswertung von Proben bei der Hysterektomie (Entfernung der Gebärmutter) eine Unterteilung der Ergebnisse in zwei Hauptgruppen statt: das Typ-I und Typ-II Karzinom. Unter die Gruppe des Typ-I Karzinoms fallen alle endometrioiden Karzinome mit plattenepithelialer, villoglandulärer oder sekretorischer Differenzierung. Das Typ-II Karzinom hingegen setzt sich aus den serösen und klarzelligen Karzinomen zusammen (Lax et al., 2016). Der häufigste Subtyp des EK ist mit ca. 80 % das endometrioide Adenokarzinom (Amant et al., 2005). Inwiefern die Unterscheidung der beiden histologischen Subtypen mit einer unterschiedlichen Prognose einhergeht, wird im Kapitel Prognose und prognoseabhängige Variablen erläutert.

1.5 Klassifikationen

Für die Stadieneinteilung des EKs gibt es zwei Klassifikationssysteme.

1.5.1 Klassifikation der Weltgesundheitsorganisation (WHO)

Die aktuelle WHO-Klassifikation des EK stammt aus dem Jahr 2014. Diese hat unter anderem eine Vereinfachung der Klassifikation eingeführt. Zunächst gibt es eine Unterteilung in Vorläuferläsionen und das endometrioide Karzinom. Zu den Vorläuferläsionen zählen die Endometriumhyperplasien ohne Atypien sowie die atypischen Endometriumhyperplasien (auch endometrioide intraepitheliale Neoplasie, kurz EIN, genannt). Das Endometriumkarzinom unterteilt sich wie zuvor beschrieben in das Typ-I und Typ-II Karzinom (Lax et al., 2016).

1.5.2 Klassifikation nach TNM und FIGO

Die Klassifikation von bösartigen Tumoren wurde erstmalig in den Jahren 1943 - 1951 als TNM System von Pierre Denoix zusammengefasst. Ab dem Jahr 1950 übernahm die Union internationale contre le cancer (UICC) die Fortführung dieser Klassifikation (Brierley et al., 2017). Gynäkologische Tumore werden zusätzlich von der Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique (FIGO) in einer eigenen Klassifikation, der FIGO-Klassifikation, eingeteilt (Prat, 2009). Beide Klassifikationssysteme enthalten eine Stadieneinteilung des EK. An dieser orientiert sich sowohl die als „Staging“ bezeichnete Einschätzung, als auch die Therapie und Prognose.

2011 erschien die aktuelle 7. Auflage der TNM und FIGO-Klassifikation für EK auf dem Markt. In der TNM-Klassifikation steht der Buchstabe „T“ für die Ausdehnung und das Verhalten des Primärtumors. Der Befall der Lymphknoten mit Metastasen wird durch den Buchstaben „N“ gekennzeichnet. Das „M“ am Schluss zeigt an, ob Fernmetastasen aufgetreten sind. Die FIGO-Klassifikation besteht aus einer Stadieneinteilung mit römischen Zahlen und Buchstaben. In Tabelle 1 sind die Parallelen der beiden Klassifikationen ersichtlich (Horn et al., 2011).

Tab. 1: TNM/FIGO-Klassifikation des Endometriumkarzinoms (Horn et al., 2011)

TNM-Kategorien	FIGO-Stadien	Beschreibung
T - Tumorstadium		
TX		Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0		Kein Anhalt für Primärtumor
Tis	^a	Carcinoma in situ
T1	I	Tumor begrenzt auf Corpus uteri
T1a	IA ^b	Tumor begrenzt auf das Endometrium oder infiltriert weniger als die Hälfte des Myometriums
T1b	IB ^b	Tumor infiltriert die Hälfte oder mehr des Myometriums
T2	II	Tumor infiltriert das Stroma der Cervix uteri, breitet sich aber nicht jenseits des Uterus aus ^b
T3 und/oder N1	III	Lokale und/oder regionäre Ausbreitung, wie nachfolgend beschrieben
T3a	IIIA	Tumor befällt Serosa des Corpus uteri und/oder der Adnexe (direkte Ausbreitung oder Metastasen)
T3b	IIIB	Vaginalbefall und/oder Befall der Parametrien (direkte Ausbreitung oder Metastasen)
T3c oder N1	IIIC	Metastasen in Becken- und/oder paraaortalen Lymphknoten
T3c1	IIIC1	Metastasen in Beckenlymphknoten
T3c2	IIIC2	Metastasen in paraaortalen Lymphknoten mit/ohne Metastasen in Beckenlymphknoten
T4	IV	Tumor infiltriert Blasen- und/oder Darmschleimhaut ^{d,e}
N – Regionäre Lymphknoten		
NX		Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
N0		Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1		Regionäre Lymphknotenmetastasen
M - Fernmetastasen		
M0		Keine Fernmetastasen
M1		Fernmetastasen (ausgenommen Metastasen in der Vagina, der Beckenserosa oder den Adnexen, einschließlich Metastasen in inguinalen Lymphknoten und/oder Metastasen in anderen intraabdominalen Lymphknoten als den paraaortalen und/oder Beckenlymphknoten)

^a FIGO enthält nicht mehr länger das Stadium 0.^b Infiltration lediglich der endozervikalen Drüsen sollte als Stadium I/T1 und nicht als Stadium II/T2 klassifiziert werden.^c Eine positive peritoneale Zytologie soll gesondert diagnostiziert und ohne Änderung des Stadiums dokumentiert werden.^d Das Vorhandensein eines bullösen Ödems genügt nicht, um einen Tumor als T4 zu klassifizieren.^e Eine Invasion der Schleimhaut von Blase und/oder Rektum bedarf der Sicherung durch eine Biopsie.

1.6 Therapie

Jede Therapie eines primär diagnostizierten EKs folgt dem gleichen Algorithmus. Eine bildliche Darstellung des Therapie-Algorithmus ist in Abbildung 1 dargestellt. Zunächst findet bei allen Patientinnen eine initiale Diagnostik statt. Diese setzt sich aus einer klinischen Untersuchung sowie einer laborchemischen Diagnostik zusammen. Die klinisch gynäkologische Untersuchung beinhaltet einen transvaginalen Ultraschall zur Beurteilung des Endometriums. Bei erhöhtem Verdacht findet eine Hysteroskopie mit fraktionierter Abrasio statt. Bestätigt sich dabei der Malignomverdacht wird ein bildgebendes Staging, mittels Computertomographie des Thorax und des Abdomens, eingeleitet. Zur Beurteilung der Eindringtiefe des Karzinoms im Myometrium ist gegebenenfalls noch eine Kernspintomographie des Beckens notwendig. Dies ermöglicht die Einstufung in das entsprechende FIGO-Stadium, an der sich die Therapie des EKs orientiert. Eine operative Entfernung des Tumors kommt nach Vorstellung im Tumorboard bei fast allen Tumorstadien in Betracht. Für die Stadien FIGO I - IIIc gehört eine Hysterektomie (Entfernung der Gebärmutter) mit beidseitiger Adnektomie (Entfernung der Eierstöcke) und Spülzytologie (Spülung mit Analyse darin schwimmender Zellen) zum Standard.

Ab FIGO Ia mit dem Grading G3 wird für die exakte Gruppierung zusätzlich eine Entnahme der pelvinen und para-aortalen Lymphknoten empfohlen. Ab dem Stadium IIIa wird die Operation, analog zum operativen Staging beim Ovarialkarzinom, durch eine Omentektomie mit Entnahme von Proben des Peritoneums und bei Befall einer Deperitonealisierung ergänzt. Ab dem FIGO Stadium IV nimmt die operative Behandlung einen alternativen Weg ein. Im Stadium FIGO IVa werden befallene Organe operativ entfernt um eine Verkleinerung des Tumorgewebes (Debulking) zu erreichen. Als inoperabel wird das Stadium IVb eingestuft. In diesem Fall kommt es nur bei einer starken, unstillbaren Blutung des Tumors zu einer operativen Entfernung der Gebärmutter (HE). Alternativ kann auch eine Tumorgefäßembolisation erfolgen. Nach dem operativen Eingriff erfolgt erneut die Vorstellung im Tumorboard. Dabei wird der Therapieablauf interdisziplinär, unter der Berücksichtigung neu gewonnener Erkenntnisse, durch die histologische Auswertung des entnommenen Tumors, ausführlich besprochen. Die Stadieneinteilung muss nach den histologischen Ergebnissen möglicherweise korrigiert werden. Die Therapie ist durch den operativen Teil nur für das Stadium FIGO Ia mit dem Grading G1

komplett abgeschlossen. Ab dem Grading G2 des Stadiums FIGO Ia bis Stadium IV folgt nun entweder eine Strahlentherapie (Brachy- oder Teletherapie), eine Chemotherapie oder eine Kombination aus beiden mit möglicher endokriner Therapie. Die endokrine Therapie ist insbesondere hinsichtlich einer palliativen Rezidivtherapie oder bei primär inoperablen Patientinnen in Erwägung zu ziehen. Eine detaillierte Aufteilung ist der nachstehenden Abbildung 1 zu entnehmen (Brambs et al., 2017).

Der nun komplettierten Therapie folgt eine Nachsorge. Da das Rezidivrisiko besonders in den ersten 3 Jahren nach der Primärtherapie am höchsten ist, wird für diesen Zeitraum eine engmaschige Kontrolle in Abständen zwischen 3-6 Monaten empfohlen. Diese setzt sich aus einer konkreten Abfrage von Symptomen sowie einer klinischen Untersuchung mit Spiegeleinstellung zusammen. Weiterhin gehören rektovaginale Palpationsuntersuchungen dazu. Der Ultraschall sowie eine zytologische Diagnostik sind als Erweiterung der Basisdiagnostik zu verstehen. Die Bestimmung des Tumormarkers CA-125 oder eine Schichtbildgebung kommen nur bei signifikanten Symptomen in Betracht und gehören somit keinesfalls zur Standarddiagnostik. Im vierten und fünften Jahr nach der Primärtherapie erfolgt die Nachsorge nur noch halbjährlich. Die weitere Betreuung der Patientinnen, nach Abschluss der 5 Jahre, kann jährlich durch den Facharzt für Allgemeinmedizin erfolgen (Eichbaum 2017; Fung-Kee-Fung et al., 2006; Salani et al., 2011a; Salani et al., 2011b; Sartori et al., 2007).

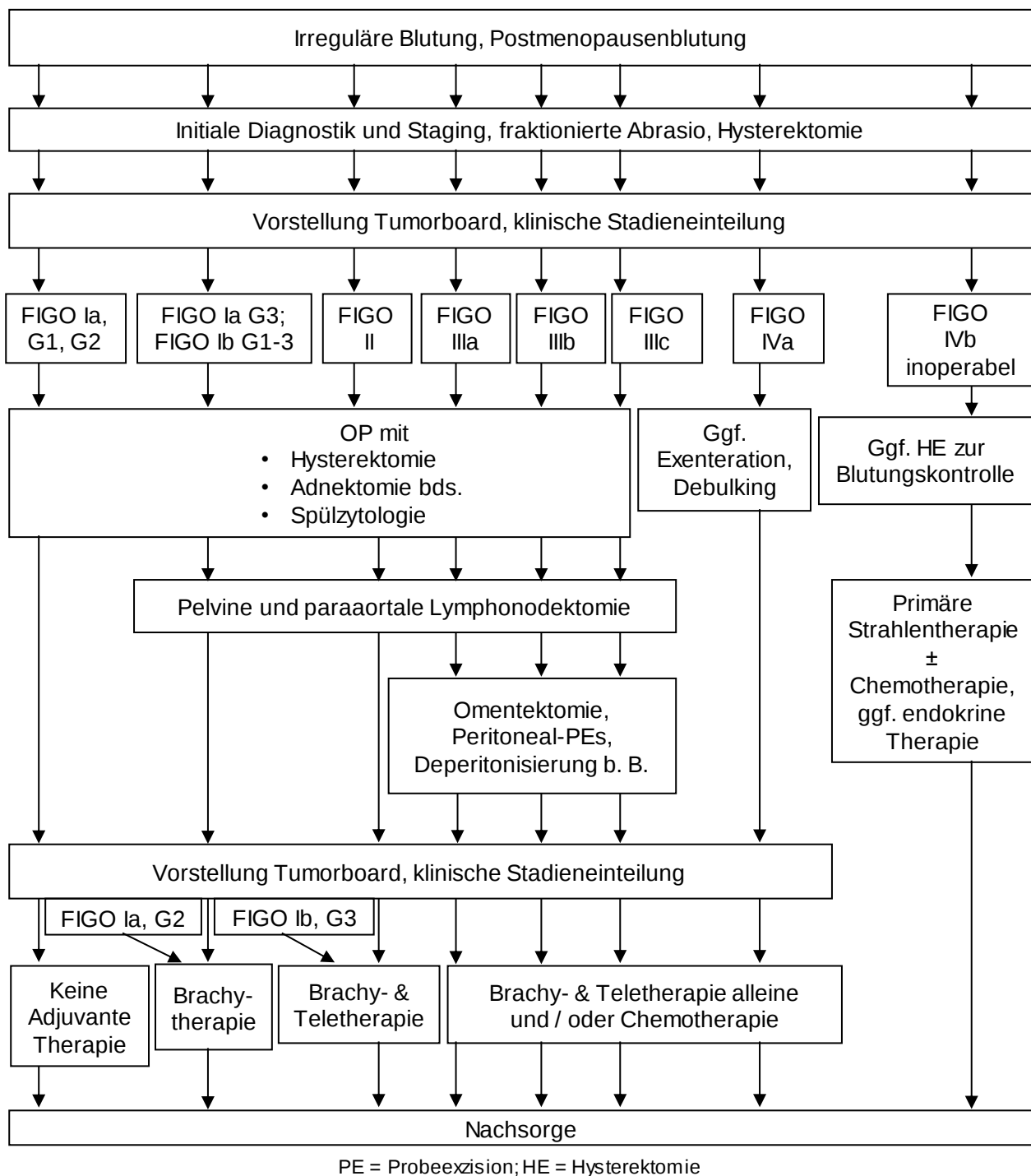


Abb. 1: Behandlungsalgorithmus des Endometriumkarzinoms (Brambs et al., 2017)

1.7 Komplikationen und Nebenwirkungen

Komplikationen und Nebenwirkungen gehören zu den möglichen Schattenseiten eines jeden medizinischen Eingriffs. In der Therapie des EKs können diese durch operative oder nachfolgende Strahlen- bzw. Chemotherapie auftreten. Dabei sind zunächst denkbare Komplikationen während der Operation (OP) selbst zu nennen. Darunter fallen Verletzungen der Nerven, Blutgefäße oder Organe, insbesondere der Eierstöcke (falls diese nicht entfernt werden), der Blase oder des Darms. Es besteht die Gefahr von Infektionen, einer Sepsis oder einer Blutung. Ebenso kann der Heilungsprozess durch eine Wundheilungsstörung in Mitleidenschaft gezogen werden. Im Aufklärungsgespräch vor jeder OP wird auf diese sowie weitere OP-Risiken hingewiesen. Mögliche Folgen der OP, wie Beschwerden aufgrund von Adhäsionen (Verwachsungen) oder Nabelhernien, sind heutzutage durch eine nahezu standardmäßige Nutzung minimalinvasiver OP-Techniken rückläufig.

Die Nebenwirkungen einer Strahlen- oder Chemotherapie treten meist erst im Anschluss an die Behandlung auf. Beispielhaft ist hier eine schmerzhaft, trockene Vaginalhaut, die bis hin zur Dyspareunie (Verlust der Freude am Sexualverkehr) führen kann, oder eine Irritation von Blase und Darm zu nennen. Veränderungen des Blutbilds oder eine Alopezie (Verlust der Haare) treten möglicherweise auf. Im Regelfall klingen die meisten Beschwerden nach dem Abschluss der Behandlung wieder ab oder können z.B. mit Hilfe von lokalen medikamentösen Applikationsformen behandelt werden. Ein hoher Prozentsatz der Frauen klagt über sexuelle Probleme aufgrund von operativen Auswirkungen auf die vaginale Anatomie. Die am meisten befürchtete Spätfolge bleibt jedoch das Lokalrezidiv, welches eine unterschiedlich starke Korrelation zu den verschiedenen Stadien des Tumors zeigt. Die Rate variiert zwischen 5 - 50%. Je niedriger die Klassifikation des Stadiums, desto niedriger ist auch das Rezidivrisiko. Neben dem Lokalrezidiv besteht zusätzlich in 6 - 10 % die Gefahr eines Zweitmalignoms oder das Auftreten von Metastasen. Das Mammakarzinom nimmt unter den Zweitmalignomen die führende Rolle ein (Eichbaum, 2017).

1.8 Prognose und Prognose-abhängige Variablen

Die Prognose einer Patientin hängt selten von nur einer prognose-abhängigen Variablen ab. Üblicherweise ist es ein Zusammenspiel aus mehreren Variablen. So besteht selbst ein etablierter prognostischer Faktor, wie das Tumorstadium, aus einem Zusammenspiel von mehreren Faktoren. Für die Stadieneinteilung allein werden bereits verschiedene Variablen benötigt. Darunter fallen sowohl die Ergebnisse der Metastasensuche und des Lymphknotenbefalls als auch das operative Staging, bei dem das Ausmaß und eine mögliche Infiltration anderer Organe berücksichtigt sind (Steiner, 2017).

Eine weitere prognostische Vorhersage bringt die Einteilung der histologischen Subtypen mit sich. Während das Typ-I Karzinom eine günstige Prognose aufweist, geht das Typ-II Karzinom mit einer ungünstigen Prognose einher. Entscheidend ist dabei das Stadium, indem das Karzinom erstmalig diagnostiziert wurde. Patientinnen, die mit einem EK im Stadium 1 diagnostiziert werden, sind meist Trägerinnen des Typ-I Karzinoms. Betroffene des Typ-II Karzinoms werden hingegen häufig erst im Stadium II-IV diagnostiziert. Das Alter der Frauen kann für eine grobe Einschätzung der Prognose genutzt werden. Frauen zwischen 55 - 65 Jahren haben meist, im Gegensatz zu Frauen im Alter von 65 - 75 Jahren, eine bessere Prognose. Das liegt unter anderem daran, dass die jüngeren Frauen eine höhere Wahrscheinlichkeit aufweisen an einem EK Typ-I zu erkranken (Lax et al., 2016).

Beim Vergleich der Fünfjahresüberlebensraten beider Subtypen im FIGO-Stadium I ist der Unterschied der Prognose deutlich zu erkennen. Das Typ-I Karzinom geht mit 80 - 90 % einher, während das Typ-II Karzinom mit 50 - 80 % eine deutlich niedrigere Überlebensquote aufweist. Durch die deutlich schlechtere Prognose der Typ-II Karzinome werden sie als High-Grade Tumore angesehen.

Für Typ-I Karzinome spielt das Grading als weiterer prognostischer Faktor eine Rolle. Ein dreistufiges Grading-System ist von der FIGO eingeführt worden, welches aus den Stufen G1 - G3 besteht. Je höher die Zahl der Stufe, desto schlechter ist die Differenzierung des Tumors. Für das Fünfjahresüberleben eines Stadium I und II Tumors mit den unterschiedlichen Gradingklassen zeigen sich die folgenden Ergebnisse: G1: 94 %, G2: 84 %, G3: 72 %. Dies verdeutlicht die prognostische Rolle des Gratings bei EK. In Zukunft werden molekularbiologische Prognosefaktoren, wie Onkogene oder Transkrip-

tionsfaktoren, in ihrer prognostischen Bedeutung stark zunehmen. Bereits heutzutage werden sie an manchen Zentren in die Therapieplanung miteinbezogen (Steiner et al., 2012).

Wie Morice et al. (2016) in seiner Veröffentlichung bereits erwähnte sind genetische Untersuchungen im Aufschwung. Sie werden für Patientinnen < 50 Jahren mit einem betroffenen Familienangehörigen ersten Grades empfohlen. So kann eine Prognose über die Wahrscheinlichkeit des Auftretens eines EKs getroffen werden, wenn die Mutation bereits erforscht ist. Der Bereich der prognose-abhängigen Variablen des EKs liegt auch in Zukunft im Interesse der Forschung.

2. Material und Methoden

Dieses Kapitel gliedert sich in drei Teile. Zunächst wird das Patientinnen-Kollektiv vorgestellt. Dann folgt der Methodenteil mit der Herstellung der Proben, den Färbevorgängen und den Auswertungen der Immunreaktionen. Im Anschluss folgt die Nennung des statistischen Programms sowie eine Erläuterung welche Tests und Verfahren zur statistischen Auswertung genutzt wurden.

2.1 Patientenvorstellung

Das Patientinnen-Kollektiv setzt sich aus 102 Patientinnen zusammen, die zwischen 2002 - 2016 an der Universitätsfrauenklinik in Bonn mit einem Endometriumkarzinom diagnostiziert und therapiert worden sind. Aufgrund von fehlendem Tumorgewebe und Ausschwemmung von Gewebe auf Objektträgern dezimiert sich die Gruppengröße des Kollektivs um 15 Patientinnen (14,7 %). Die finale Kollektivgröße setzt sich somit aus 87 Patientinnen zusammen.

Die Behandlung und Therapie orientierte sich an den aktuellen Leitlinien. Mithilfe der klinischen Datenbank des gynäkologischen Krebszentrums und der Datenbank des Instituts für Pathologie sowie vereinzelter archivierter Akten, sind die klinischen Daten erfasst worden. Das Follow-Up der Patientinnen erfolgte über die bereits genannten Datenbanken oder, falls möglich, über eine persönliche Kontaktaufnahme. Das Institut für Pathologie der Universitätsklinik Bonn erstellte die histopathologische Aufarbeitung mit Bestimmung des Tumorstadiums der Gewebeproben. Diese erfolgte basierend auf der 7. FIGO/TNM-Klassifikation des EKs aus dem Jahr 2010. (Horn et al., 2011). Angepasst an die Änderung im FIGO/TNM-System werden alle vor dem Jahr 2010 diagnostizierten Malignome anhand der aktuell geltenden Stadieneinteilung klassifiziert.

2.2 Herstellung des Tissue-Microarrays (TMA)

Die Technologie der Microarrays entwickelte sich im Laufe der 1990er Jahre. Der Vorteil der Tissue-Microarray Methode (TMA) ist die Möglichkeit bis zu 1000 Gewebeschnitte auf einem Objektträger unterzubringen. Die Gewebeschnitte stammen aus Präparaten des Patienten, die z.B. während einer Operation entnommen wurden. Damit eine längerfristige Lagerung dieser Proben möglich ist, sind sie mit Formalin zu Blöcken verarbeitet worden. Die TMA Proben sind mit Stanzen aus den in Formalin fixierten Blöcken herausgestochen und in Paraffin eingebettet worden. Jede Stanze enthält einen Gewebeschnitt. Diese Schnitte sind in Reihen nacheinander auf den Objektträger aufgetragen worden (Moch et al., 2001; Fliesser, 2006).

Mit Hilfe einer Hämatoxylin-Eosin-Färbung sind repräsentative Tumoreale auf den TMA-Proben angefärbt worden. Die Blöcke, die den größten Anteil mit Tumorgewebe vorwiesen, sind für die Untersuchung von Interesse und daher ausgewählt worden. Für jede Patientin wurden zwei Stanzen aus den Tumorealen erfasst. Der Durchmesser jeder Stanze beträgt 1 mm. Dies ergibt eine gestanzte Fläche von 0,785 mm². Die Stanzen sind zu mehreren TMA Objektträgern verarbeitet worden. Ein Objektträger kann insgesamt bis zu 84 Stanzen enthalten.

Im Hinblick auf eine vereinfachte Auswertung ist eine Tabelle aufgestellt worden, wo jede Gewebeprobe an entsprechender Stelle aufgeführt ist. Tabelle Nr. 2 zeigt eine Tabelle dieser Art. Sie gibt an, dass auf dem Objektträger 72 Gewebeproben zu finden sind. Pro Patientin sind jeweils 2 Gewebeproben vorzufinden. Insgesamt enthält dieser Träger daher die Proben von 36 Patientinnen. In jedem Feld der Tabelle stehen Informationen zur Herkunft der Gewebeprobe. Die Zahl in der ersten Zeile steht für die Eingangsnummer, die das Präparat beim Probeneingang im Labor erhalten hat. Die zweite Zeile gibt das Jahr an (Bsp.: 08 = 2008). Die restlichen Zeilen geben, mit einer Kombination aus Buchstaben und Zahlen, den Block an, aus dem das Material entnommen wurde. Dabei entspricht der fettgedruckte Teil dem Block, aus dem die Stanze der TMA Probe stammt (Bsp.: 1A + **B** = die Probe stammt aus dem Block 1B).

	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12	X13	X14
Y1	8535/ 04 3E	8535/ 04 3E	13176/ 04 2G	13176/ 04 2G	19005/ 04 2L	19005/ 04 2L	22851/ 04 1-SD	22851/ 04 1-SD	23076/ 04 4A+E+F	23076/ 04 4A+E+F	27154/ 04 1A+B	27154/ 04 1A+B	29675/ 04 2B+H+F	29675/ 04 2B+H+F
Y2	3367/ 05 B-SD*	3367/ 05 B-SD*	8820/ 05 2A+B	8820/ 05 2A+B	25445/ 05 1C+E	25445/ 05 1C+E	1959/ 06 1C+E	1959/ 06 1C+E	20016/ 06 2A-C	20016/ 06 2A-C	27440/ 06 1+2A-SD	27440/ 06 1+2A-SD	1151/ 07 1B	1151/ 07 1B
Y3	1909/ 07 3A-D	1909/ 07 3A-D	6785/ 07 A*, 3A	6785/ 07 A*, 3A*	17727/ 07 1A-SD	17727/ 07 1A-SD	20916/ 07 2D,F-H	20916/ 07 2D,F-H	31729/ 07 1,2A+B	31729/ 07 1,2A+B	7871/ 08 2B+E, B-SD	7871/ 08 2B+E, B-SD	9884/ 08 16C+F	9884/ 08 16C+F
Y4	10428/ 08 2A-D	10428/ 08 2A-D	13359/ 08 B-SD*	13359/ 08 B-SD*	16751/ 08 2C, A-SD	16751/ 08 2C, A-SD	35679/ 08 2*	35679/ 08 2*	13170/ 09 7A+D	13170/ 09 7A+D	24815/ 09 2A+B-E	24815/ 09 2A+B-E	27076/ 09 6E,F-H	27076/ 09 6E,F-H
Y5	32606/ 09 4A-C	32606/ 09 4A-C	38605/ 09 4B+C+F	38605/ 09 4B+C+F	2765/ 10 B-SD A,3A	2765/ 10 B-SD A,3A	5968/ 10 5A+E A-SD	5968/ 10 5A+E, A-SD	9266/ 10 3A+D+F +G	9266/ 10 3A+D+F +G	13542/ 10 2A+B+C	13542/ 10 2A+B+C	26927/ 10 3A+B+F	26927/ 10 3A+B+F
Y6	39808/ 10 5A-C, A-SD	39808/ 10 5A-C, A-SD	Leer	Leer	Leer	Leer	Leer	Leer	Leer	Leer	Leer	Leer	Leer	Leer

* Hinweis: dieser Block enthält wenig Gewebe

Tab. 2: Aufbau einer TMA Tabelle

2.3 Immunhistochemische Färbung

Der Großteil der immunhistochemischen Anfärbungen sind mit einem Färbeautomat der Serie VENTANA BenchMark Ultra (Ventana Medical Systems, Tucson, Arizona, USA) durchgeführt worden. Dieser ist mit einem Ventana Amplifier Detection Kit zur verbesserten bildlichen Darstellung ausgestattet. Die Färbungen, die mit diesem Färbeautomaten durchgeführt wurden, sind: PD-L1, CD3, CD20, CD68, p16, HER2/neu, Östrogen- und Progesteronrezeptor. Ein weiterer Färbeautomat wurde für die Ki-67 Färbung verwendet. Dieser stammt vom Hersteller DakoCytomation (DAKO TechMate 500; DAKO, Glostrup, Dänemark).

Der Auswertemodus und die Nachweisgrenzen der immunhistochemischen Färbungen sowie die Lokalisation der angefärbten Bereiche jeder Färbung sind in Tabelle 3 aufgeführt. Details über den Isotyp, den Klon, die Verdünnung und den Hersteller der Antikörper Färbungen finden sich in Tabelle 4.

Tab. 3: Übersicht über die immunhistochemischen Auswertungen

Antigen	Lokalisation	Auswertemodus, Nachweisgrenze
CD3 (T-Lymphozyten)	membranär, zytoplasmatisch	Auszählung am gesamten biopsierten Areal (epithelial vs. stromal)
CD20 (B-Lymphozyten)	membranär, zytoplasmatisch	Auszählung am gesamten biopsierten Areal (epithelialen vs. stromal)
CD68 (Monozyten / Makrophagen)	zytoplasmatisch	Auszählung am gesamten biopsierten Areal (epithelial vs. stromal)
HER2/neu*	membranär	Tumorale Färbeintensität von $\geq 3+$ in $\geq 30\%$ aller Tumorzellen
Ki-67	nukleär	Anteil positiver Zellen
Östrogen	nukleär	Tumorale Färbeintensität von $\geq 1+$ in $\geq 1\%$ allen Tumorzellen
PD-L1	membranär	Tumorale Färbeintensität von $\geq 1+$ in $\geq 1\%$ allen Tumorzellen
Progesteron	nukleär	Tumorale Färbeintensität von $\geq 1+$ in $\geq 10\%$ allen Tumorzellen
p16 ^{INK4A}	nukleär, zytoplasmatisch	Tumorale Färbeintensität von $\geq 3+$ in $\geq 30\%$ allen Tumorzellen

* (Waqar et al., 2018)

Tab. 4: Übersicht über die verwendeten Antikörper-Färbungen

Antigen	Isotyp	Klon	Verdünnung	Hersteller
CD3	IgG2a (murin, monoklonal)	PS1	1:50	Novocastra, Newcastle Upon Tyne, England
CD20	IgG2a (murin, monoklonal)	L26	1:2000	Dako, Glostrup, Dänemark
CD68	IgG3 (murin, monoklonal)	PG-M1	1:250	Dako, Glostrup, Dänemark
HER2/neu	VENTANA anti-HER2/neu (monoklonal)	4B5	Vorverdünnt	Roche, Basel, Schweiz
Ki-67	IgG1 (murin, monoklonal)	MIB-1	1:500	Dako, Glostrup, Dänemark
Östrogen	CONFIRM™ anti-ER* (monoklonal)	SP1	Vorverdünnt	Roche, Basel, Schweiz
PD-L1	IgG1 (murin, monoklonal)	22C3	1:25	Dako, Glostrup, Dänemark
Progesteron	CONFIRM™ anti-PR** (monoklonal)	1E2	vorverdünnt	Roche, Basel, Schweiz
p16 ^{INK4A}	CINtec® Histology kit	--	--	Roche, Basel, Schweiz

* ER = Estrogen Rezeptor (hergestellt von VENTANA)

** PR = Progesteron Rezeptor (hergestellt von VENTANA)

2.4 Auswertung der Immunreaktionen

Die Auswertung der immunhistochemischen Färbungen wurde in den Räumlichkeiten des Instituts für Pathologie gemeinsam mit den Kollegen des Instituts für Pathologie erstellt. Die immunhistochemisch angefärbten Zellen wurden lichtmikroskopisch analysiert. Die dazu verwendeten Gerätschaften sind das Leica DM LB2 Mikroskop (Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH, Wetzlar, Deutschland), der Panoramic Viewer (3DHISTECH Ltd., Budapest, Ungarn) und das Axio Observer D1 Mikroskop (Zeiss, Jena, Deutschland) mit dem digitalen Bildbearbeitungsprogramm für Weitfeldmikroskopie: Axio Vision Version 4.7 (Zeiss). Für die Negativ-Kontrollen der PD-L1-, Östrogen-, Progesteron- und Her2/neu-Färbung wurden ausgewählte Anteile von Nierenpräparaten verwendet. Die Positiv-Kontrollen erfolgten für PD-L1 an Abschnitten aus Tonsillenpräparaten, für Östrogen, Progesteron und Her2/neu hingegen am Parenchym der Mamma. Für die Immunzellmarker (CD3, CD20, CD68) sowie Ki67 und p16 wurden keine Kontrollen durchgeführt.

2.4.1 PD-L1

Die Anfärbung der Membran von PD-L1 an Tumorzellen wurde als positiv gewertet, wenn sich ein Färbemuster wie Honigwaben (kontinuierliche Anfärbung der Zellmembranen) zeigte. Eine zytoplasmatische Anfärbung hingegen wurde nicht in Betracht gezogen. Die Einteilung des Anfärbegrades gliederte sich in vier Kategorien:

- 0: keine Anfärbung
- 1+: geringgradige Anfärbung
- 2+: mittelgradige Anfärbung
- 3+: starke Anfärbung

Zusätzlich zum Anfärbegrad erfolgte eine Abschätzung über den prozentualen Anteil der gefärbten Tumorzellen. Tumorareale mit einer Färbeintensität von $\geq 1+$ mit einem prozentualen Anteil $\geq 1\%$ der Tumorzellen wurden als positiv gewertet. Eine Studie von Li et al. (2017) wertete PD-L1 ab einem prozentualen Anteil $\geq 1\%$ als positives Ergebnis aus, eine Studie von Kucukgoz Gulec et al. (2019) ab einem prozentualen Anteil $\geq 5\%$.

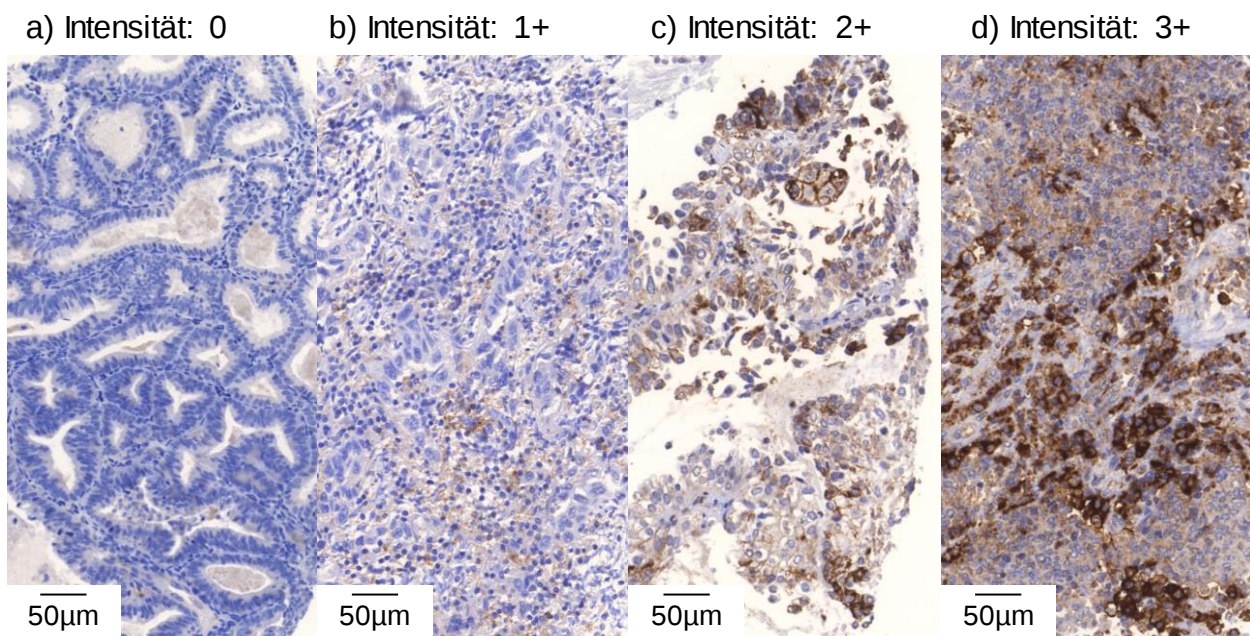


Abb. 2: PD-L1 Anfärbegrade

2.4.2 Ki-67

Die Ki-67 Färbung orientierte sich an der Anfärbung des Kerns der Tumorzellen. Bei einer positiven Anfärbung wurde der Anteil der positiv gefärbten Zellen prozentual festgehalten.

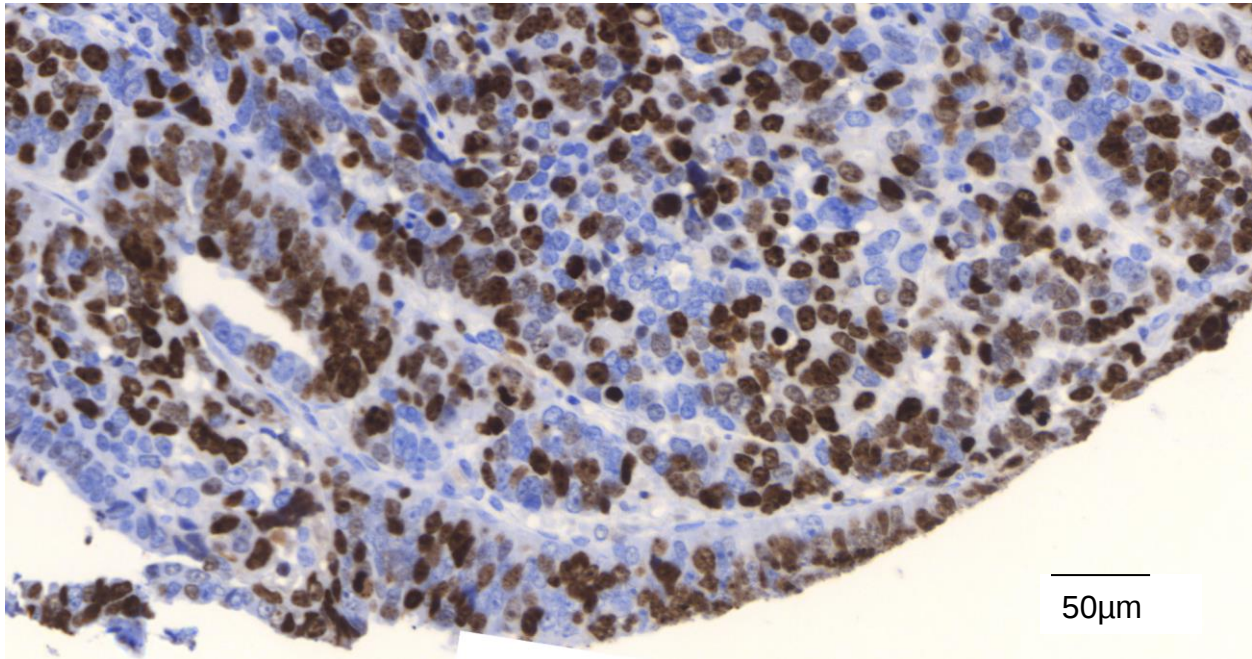


Abb. 3: Ki-67 Expression

2.4.3 P16

Bei der Auswertung der p16 Färbung zeigte sich sowohl eine starke Anfärbung des Zellkerns als auch eine Anfärbung des Zytoplasmas. Ab einer Anfärberate von > 30 % der Zellen mit einer Färbeintensität $\geq 3+$ war das Ergebnis der Färbung positiv.

2.4.4 CD3, CD20 und CD68

Um eine Differenzierung der Zellen des Immunsystems zu ermöglichen, erfolgte eine Auszählung der Zellpopulationen für B- und T-Lymphozyten sowie Monozyten und Makrophagen. Diese fand sowohl im Epithel als auch im Stroma der Zellen statt.

B-Lymphozyten wurden mit Hilfe des Markers CD20, T-Lymphozyten mit dem Marker CD3 und Monozyten / Makrophagen mit dem Marker CD68 identifiziert. Die Auszählung der CD3, CD20 und CD68 Zellen erfolgte über die gesamte Fläche jeder Stanze. Die Werte wurden dabei für den Bereich des Epithels und des Stroma getrennt angegeben. Aus beiden Stansen wurde zur besseren Vergleichbarkeit ein Mittelwert gebildet.

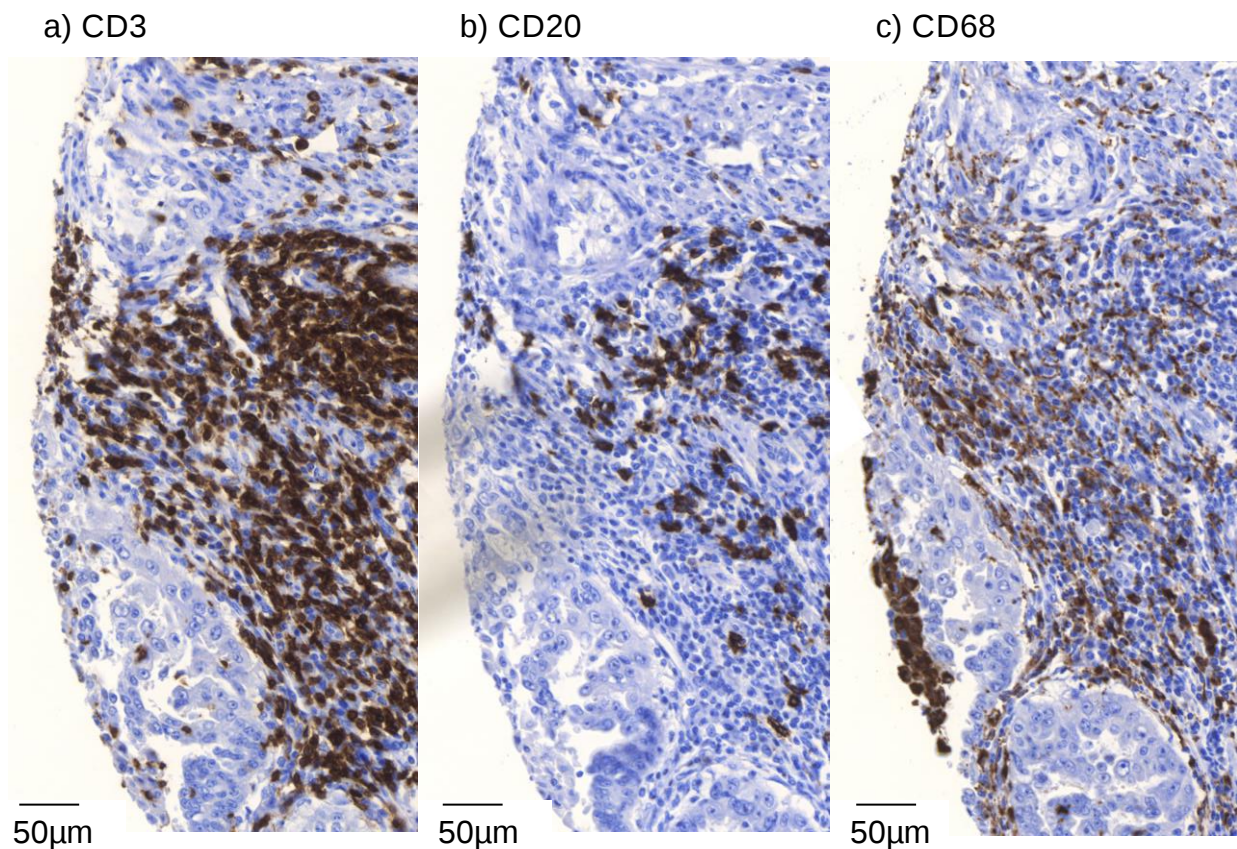


Abb. 4: Anfärbung der Immunzellen

2.4.5 Östrogen- und Progesteronrezeptor

Für die Interpretation der Progesteron- und Östrogenrezeptor-Färbungen wurde auf die Anfärbung der Zellkerne geachtet. Für den Progesteronrezeptor wurde ab einer Färbintensität $> 1+$ und einer Anfärbung von $> 10\%$ aller Zellen ein positives Färbeergergebnis notiert. Beim Östrogenrezeptor wurde ab einer Färbintensität $> 1+$ und einer Anfärbung von $> 1\%$ aller Zellen ein positives Ergebnis verzeichnet.

2.4.6 Her2/neu

Bei Her2/neu war eine positive Reaktionsfähigkeit in der Membran der Zielzellen zu beobachten. Wie bei Wagar et al., (2018) orientierte sich die Auswertung von Her2/neu an einer Intensität der Färbung ab $3+$, sowie einer prozentualen Anfärbung der Zellen $\geq 30\%$. Die Studie von Wagar et al. (2018) orientierte sich am Auswertungsverfahren der American Society of Oncology und dem College of American Pathologists (ASCO/CAP).

2.5 Statistische Auswertemethode

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm SPSS (IBM SPSS Statistics 25). Zur Ermittlung der Ergebnisse wurden folgende Funktionen von SPSS genutzt: Chi-Quadrat-Test, Kreuztabellen, Überlebensfunktionen (Kaplan-Meier Kurven), ein Test für unabhängigen Stichproben (T-Test) sowie die Cox Regressionsanalyse. Mit Hilfe des Cox-Modells haben wir den Effekt der prognose-abhängigen Variablen auf die Überlebenszeit untersucht (Ziegler et al., 2004). Eine graphische Darstellung einzelner Auswertungen erfolgte mittels Kaplan-Meier Kurven und Histogrammen. Auf das Resultat der Auswertung wird im Kapitel Ergebnisse detailliert eingegangen. Alle Ergebnisse wurden Dr. Rolf Fimmers vom Institut für medizinische Biometrie, Informatik und Epidemiologie (IMBIE) vorgestellt und geprüft.

3. Ergebnisse

In diesem Kapitel werden die Resultate der statistischen Auswertung, aufgeteilt in epidemiologische Ergebnisse und Zusammenhänge der Prognosefaktoren, erläutert.

3.1 Epidemiologische Ergebnisse

Dieser Abschnitt gibt Informationen über die Zusammenstellung des Patientinnen-Kollektivs. Dabei wird auf die Gruppengröße, die Verteilung des Alters und des Body-Mass-Index (BMI), Vorerkrankungen sowie den Nikotinkonsum eingegangen.

3.1.1 Gruppengröße des Kollektivs

In den Jahren 2002 - 2016 wurden an der Frauenklinik der Universitätsklinik Bonn 102 Patientinnen mit einem EK diagnostiziert und therapiert. Zunächst erfolgt die Anfärbung aller operativ gewonnenen Präparate mit dem Antigen für PD-L1. Aufgrund von fehlendem Tumorgewebe und Ausschwemmung von Gewebe auf Objektivträgern dezimiert sich die Gruppengröße des Kollektivs um 15 Patientinnen (14,7 %).

Abbildung 5 zeigt die Zusammensetzung der finalen Kollektivgröße mit 87 Patientinnen unter Angabe der Anzahl an therapierten Patientinnen pro Jahr. Diese finale Kollektivgröße musste aufgrund der Datenlage bei einzelnen Untersuchungen reduziert werden.

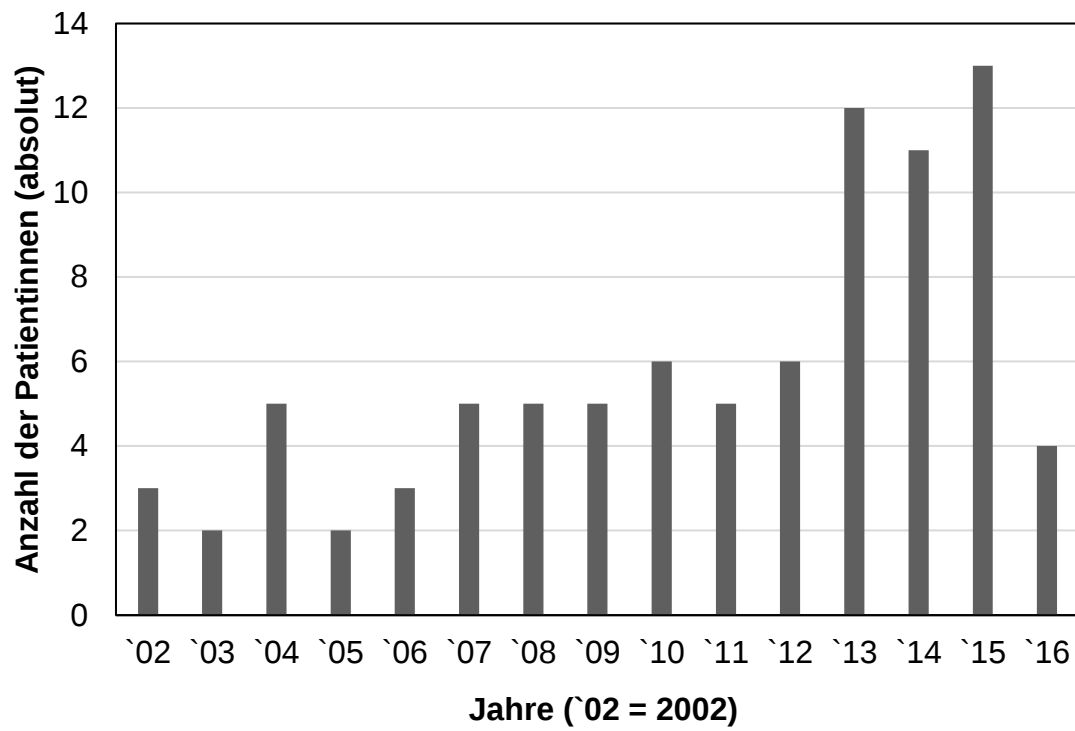


Abb. 5: Übersicht über die Anzahl der Patientinnen pro Jahr

3.1.2 Alter

Das Alter der Patientinnen weist zum Zeitpunkt der OP eine Altersspanne von 33 - 89 Jahren auf. Dabei liegt der Altersdurchschnitt bei 63 Jahren. Der Großteil der Gruppe weist dabei ein Alter zwischen 52 - 74 Jahren auf. Wie in Abbildung 6 ersichtlich, befanden sich die meisten Patientinnen bei der Operation des EKs bereits in der Postmenopause oder im Senium.

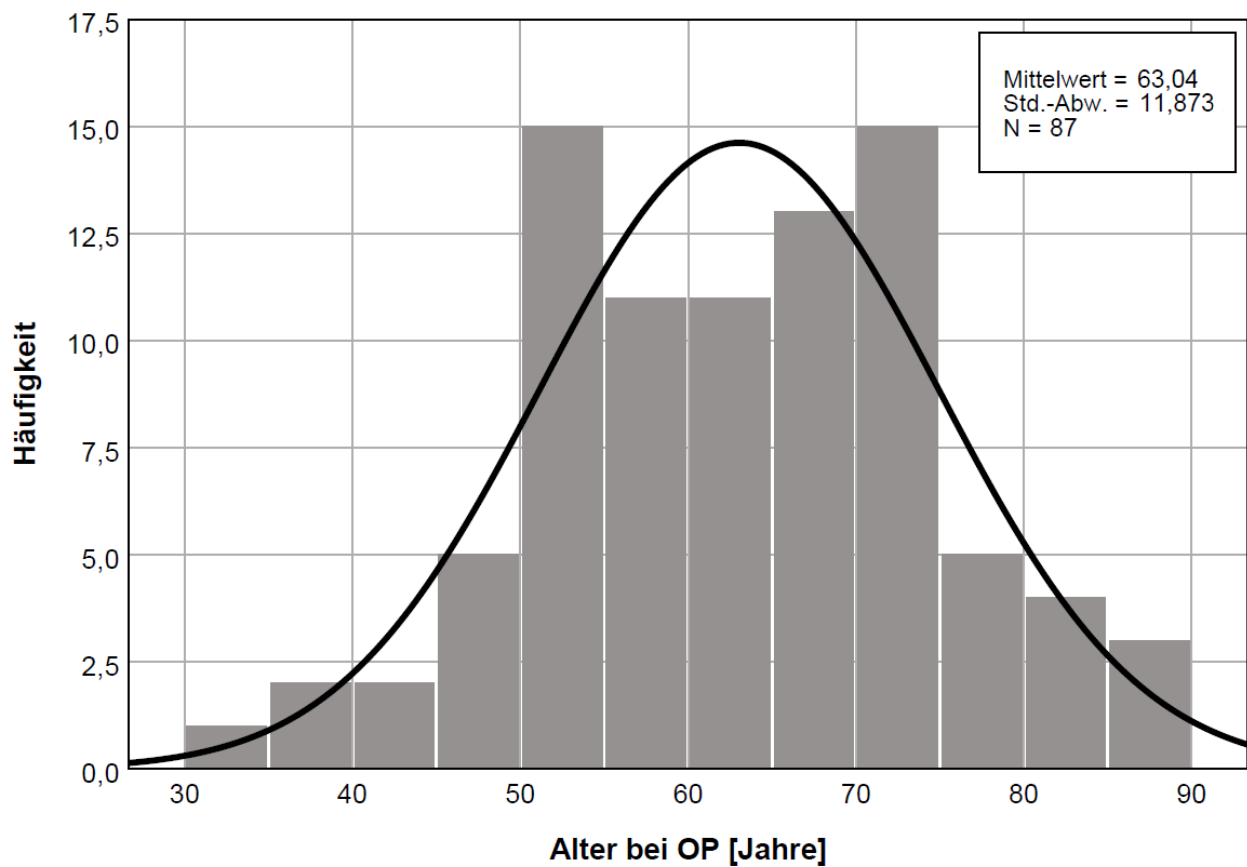


Abb. 6: Verteilung der Spannweite des Alters

3.1.3 Body-Mass-Index (BMI)

Ebenso, wie das Alter der Patientinnen, ist der Body-Mass-Index der Frauen festgehalten worden. Unter Angabe der Größe und des Gewichts der Patientinnen lässt dieser sich mit Gleichung 1 berechnen. Bei 71 Patientinnen waren die entsprechenden Angaben vorhanden.

$$BMI = \frac{\text{Körpergewicht [kg]}}{(\text{Körpergröße})^2 [\text{m}^2]} \quad (1)$$

Der Mittelwert des BMI liegt bei 30,5 und damit bereits im Bereich der Adipositas Grad I. Der Hauptteil der Gruppe liegt, wie in Abbildung 7 zu sehen, zwischen 21,5 - 39,5.

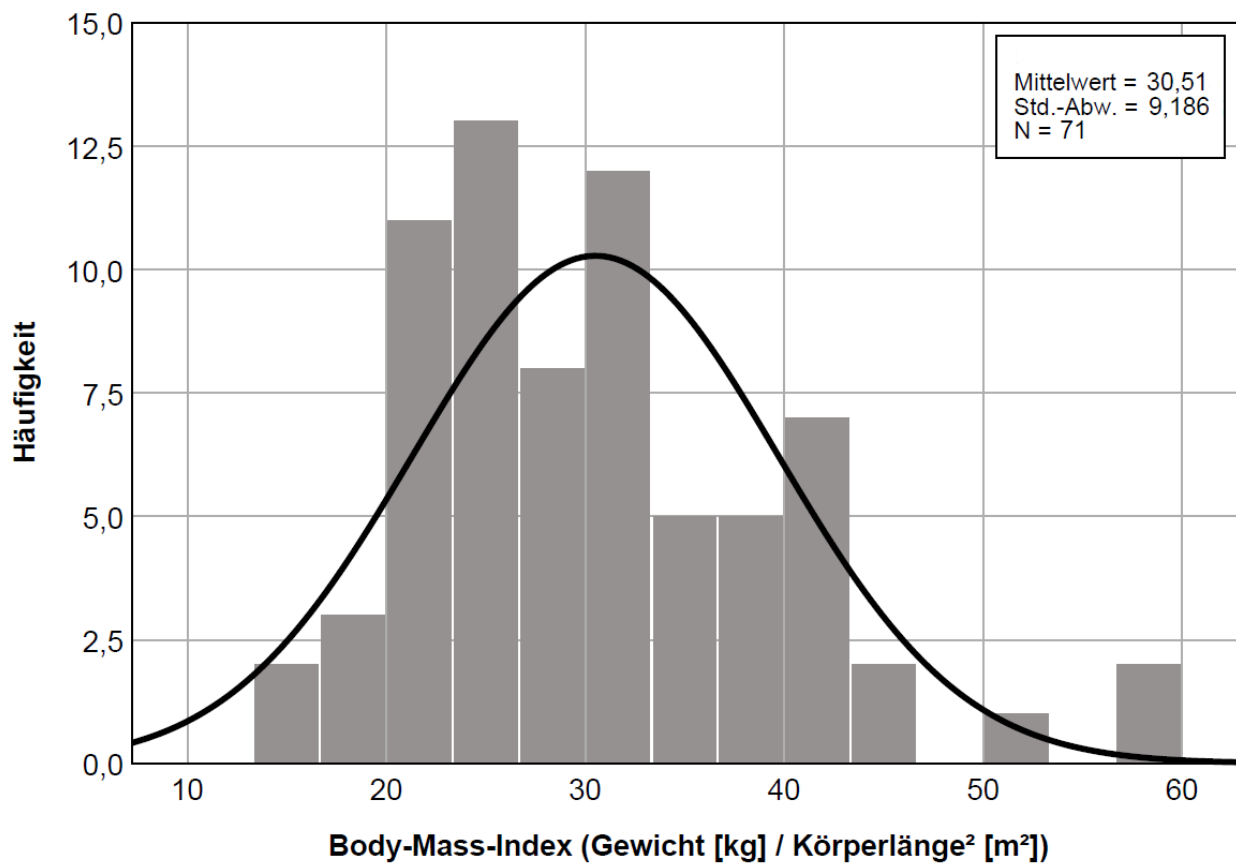


Abb. 7: Verteilung des Body-Mass-Index

3.1.4 Vorerkrankungen

Die Vorerkrankungen aller 87 Patientinnen der Studie sind für deskriptive Zwecke des Kollektivs dokumentiert worden. Zehn Frauen (11 % des Kollektivs) haben keine Vorerkrankungen zu verzeichnen. Nicht jede Vorerkrankung ist für die Erkrankung des EKs mit einem Risikofaktor gleichzusetzen. Abbildung 8 gibt einen Überblick, wie viele Risikofaktoren in den Vorerkrankungen pro Patientin aufgezeichnet worden sind. Es ist deutlich zu erkennen, dass der Großteil der Frauen (89 %) bereits ≥ 2 Vorerkrankungen hat. Dabei ist in 81 % der Fälle mindestens ein Risikofaktor vorhanden. Zu den am häufigsten genannten Risikofaktoren zählen in dieser Studie unter anderem ein Diabetes Mellitus, eine Adipositas, ein Hypertonus oder ein bereits an anderer Stelle aufgetretenes Karzinom.

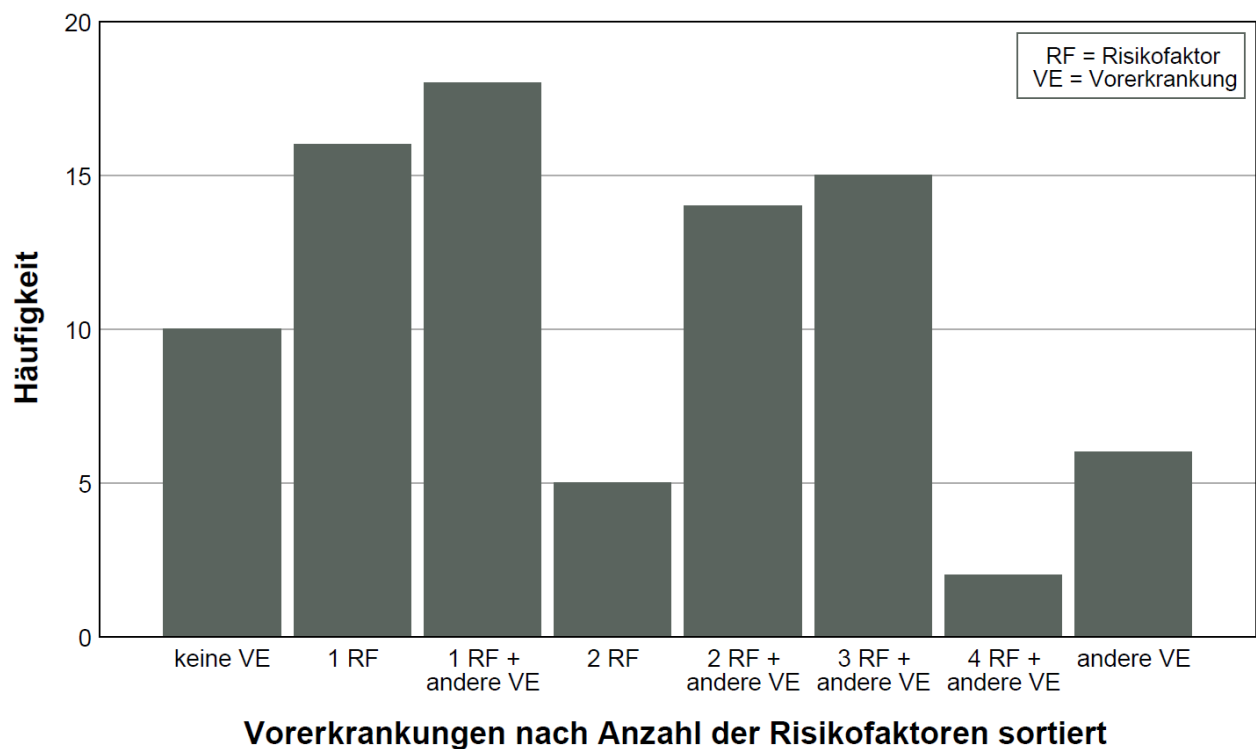


Abb. 8: Gruppierung aller Vorerkrankungen anhand der Anzahl der enthaltenen Risikofaktoren

3.1.5 Nikotin-Konsum

Bei 60 Frauen (69 % des Kollektivs) ist bekannt, ob ein Nikotinkonsum vorgelegen hat. Die Auswertung ergibt, dass im Patientinnen-Kollektiv 9 Frauen Raucherinnen waren und sich somit insgesamt ein Anteil von 15 % für Raucher und 85 % für Nichtraucher errechnet. Die Gesamtkonstellation zeigt Abbildung 9.

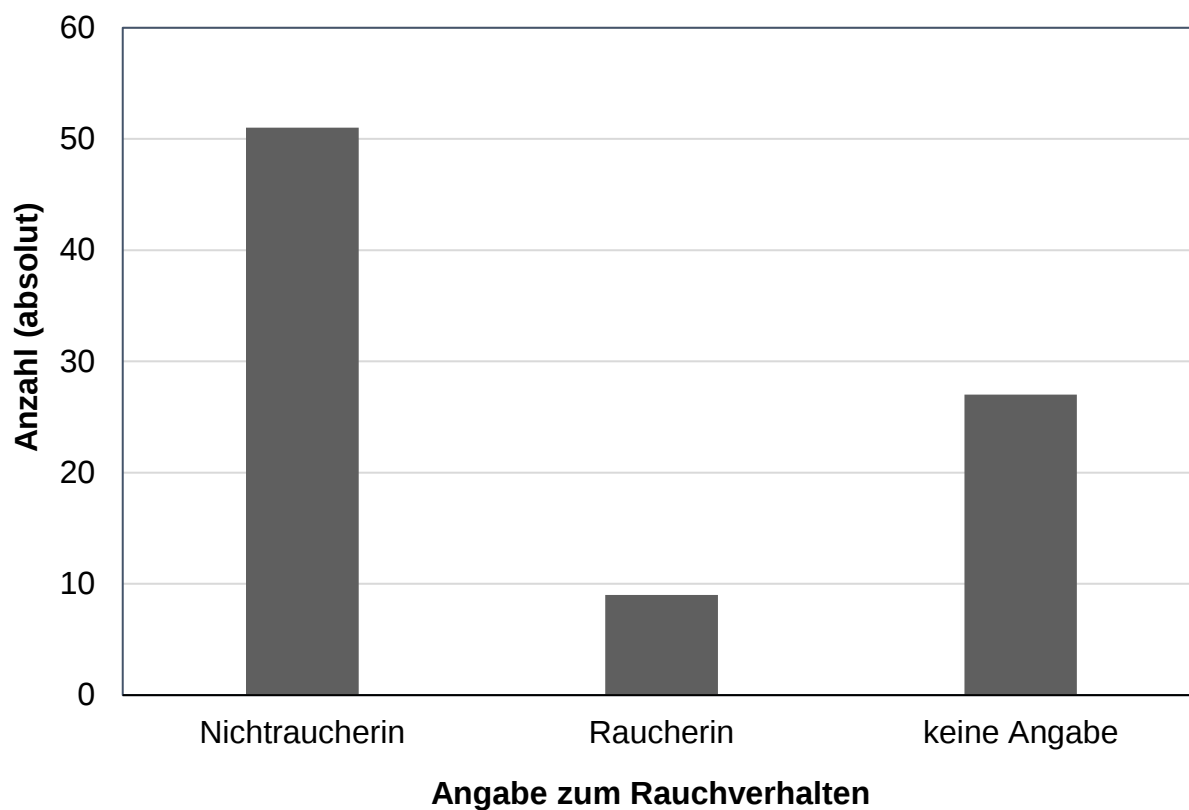


Abb. 9: Angabe des Nikotin-Konsums

3.2 Überlebensraten in Abhängigkeit verschiedener Prognosefaktoren

Dieser Abschnitt spiegelt den Einfluss verschiedener Prognosefaktoren auf das Überleben der Patientinnen wider. Als prognostische Faktoren sind dabei die histologischen Subtypen, das Grading, die Stadieneinteilung nach den Klassifikationssystemen TMN und UICC, die Metastasierung, der Lymphknotenstatus, die unterschiedlichen Immunreaktionen und die Lymphozyten-Infiltration des Kollektivs aufgeführt. Das Überleben der Patientinnen ist in Monaten ab dem Zeitpunkt der OP festgehalten worden. Parallelen oder Differenzen zwischen den Prognosefaktoren und einer PD-L1 Expression werden in jedem Abschnitt genannt.

3.2.1 Prognosefaktor histologischer Subtyp

In der mikroskopischen Auswertung der Präparate aller 87 Patientinnen zeigt sich eine Verteilung der histopathologischen Klassifikation in drei Gruppen. Dazu gehören die Gruppen des EK Typ-I und II sowie die Gruppe der undifferenzierten Karzinome. Abbildung 10 zeigt die Verteilung der Gruppen in absoluten Zahlen an. Das Typ-I EK ist dabei mit über 94 % am häufigsten vertreten. Es besteht uneingeschränkt aus dem EK des endometrioiden Typs. Mit knapp unter 5 % folgt das Typ-II EK und danach schließen sich mit 1 % die undifferenzierten Karzinome an. Das Typ-II EK des Kollektivs weist ausschließlich seröse EK auf.

Die prognostische Relevanz des histologischen Subtyps ist mittels Kaplan-Meier-Überlebenskurven überprüft worden. Dabei ist in Abbildung 11 und 12 zu sehen, dass Patientinnen mit einem Typ-I EK eine bessere Prognose im Sinne eines längeren Überlebens hatten als Patientinnen mit einem Typ-II EK. Beim Gesamtüberleben beträgt der Unterschied der Überlebensdauer zwischen Typ-I und Typ-II 53 Monate. Die Differenz der beiden Typen zeigt sich ebenso im rezidiv-freien Überleben mit einem Unterschied von 50 Monaten. Der histologische Subtyp ist somit als prognostischer Faktor für das EK anzusehen. Die positive PD-L1 Expression der histologischen Subtypen teilt sich wie folgt auf: 15 % des Typ-I und 75 % des Typ-II. Im Chi-Quadrat Test nach Pearson zeigt

sich eine exakte Signifikanz von 0,015. Die PD-L1 Anfärbung korreliert mit dem histologischen Subtyp Typ-II.

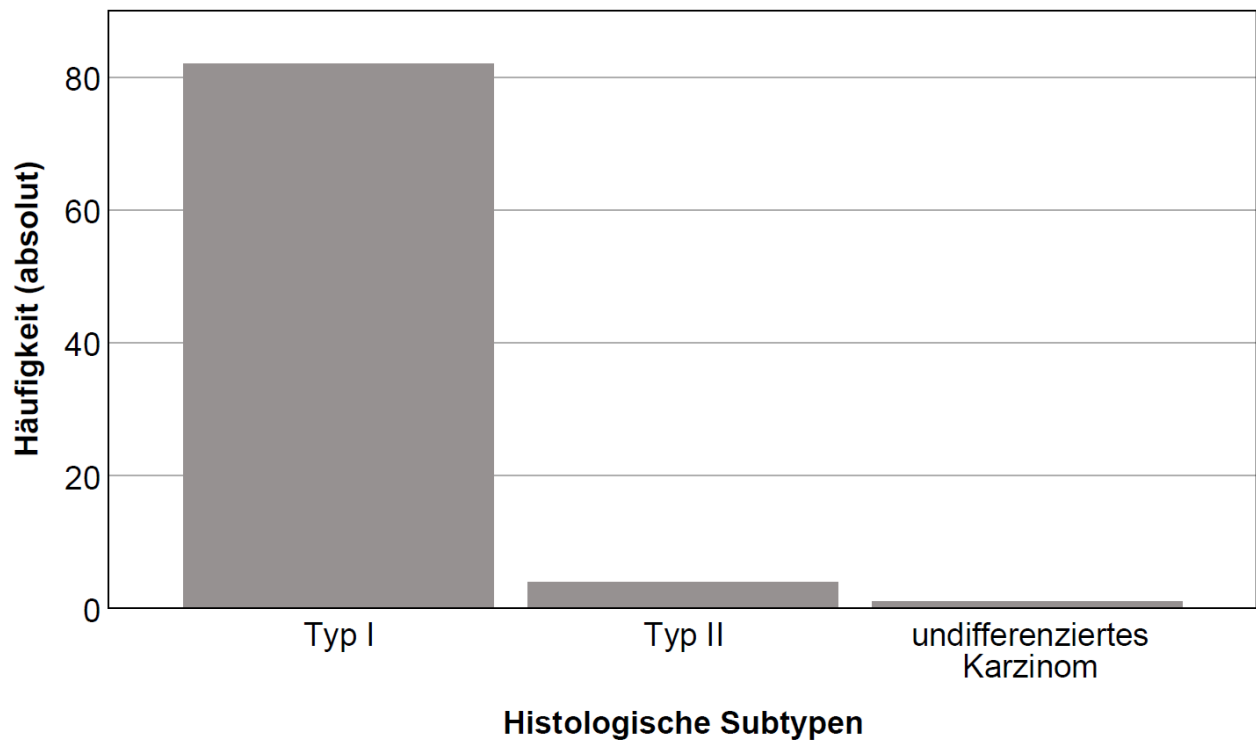


Abb. 10: Häufigkeitsverteilung der verschiedenen histopathologischen Typen des Kollektivs

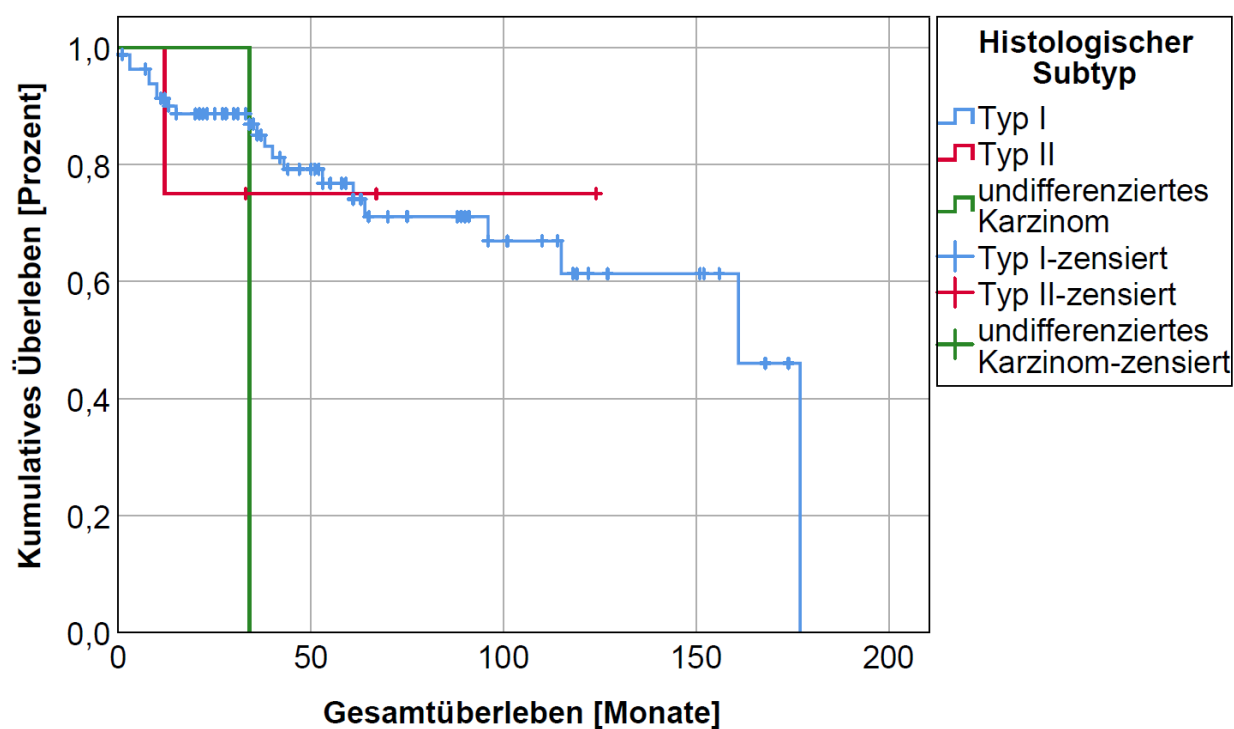


Abb. 11: Kaplan-Meier-Kurve des Gesamtüberlebens für den Prognosefaktor histologischer Subtyp

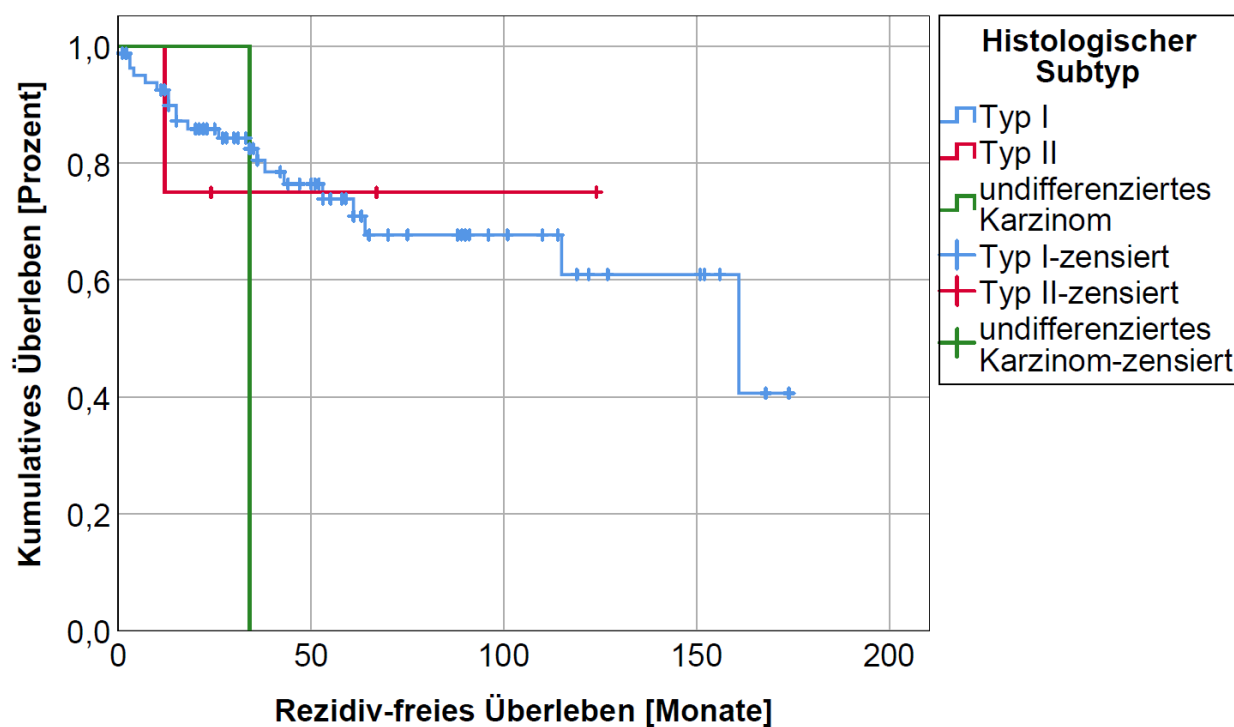


Abb. 12: Kaplan-Meier-Kurve des rezidiv-freien Überlebens für den Prognosefaktor histologischer Subtyp

3.2.2 Prognosefaktor Grading

Der Grading-Grad des EKs ist für jede Patientin des Kollektivs durch eine histologische Auswertung bestimmt. Dabei zeigt sich, wie in Abbildung 13 zu sehen, eine prozentuale Aufteilung von 10 % (9 Patientinnen) für Grad 1 (G1), 66 % (57 Patientinnen) für Grad 2 (G2) und 24 % (21 Patientinnen) mit einer Differenzierung des Grad 3 (G3).

In der Grading-Einteilung des EK der FIGO ist eine Differenzierung zwischen low-grade und high-grade Karzinomen etabliert. Dabei umfasst die low-grade Gruppe die Gradingstufen G1 und G2. G3 zählt zur high-grade Gruppe. Um Unterschiede hinsichtlich des Gesamt- und rezidiv-freien Überlebens zwischen der low-grade und der high-grade Karzinom-Gruppe herausstellen zu können, werden G1 und G2 als eine Gruppe zusammengefasst (Soslow et al., 2019). Die neue prozentuale Verteilung der beiden Gruppen liegt somit bei 76 % (66 Patientinnen) in der Gruppe 1, bestehend aus G1 und G2 sowie weiterhin 24 % (21 Patientinnen) in der Gruppe 2, bestehend aus G3.

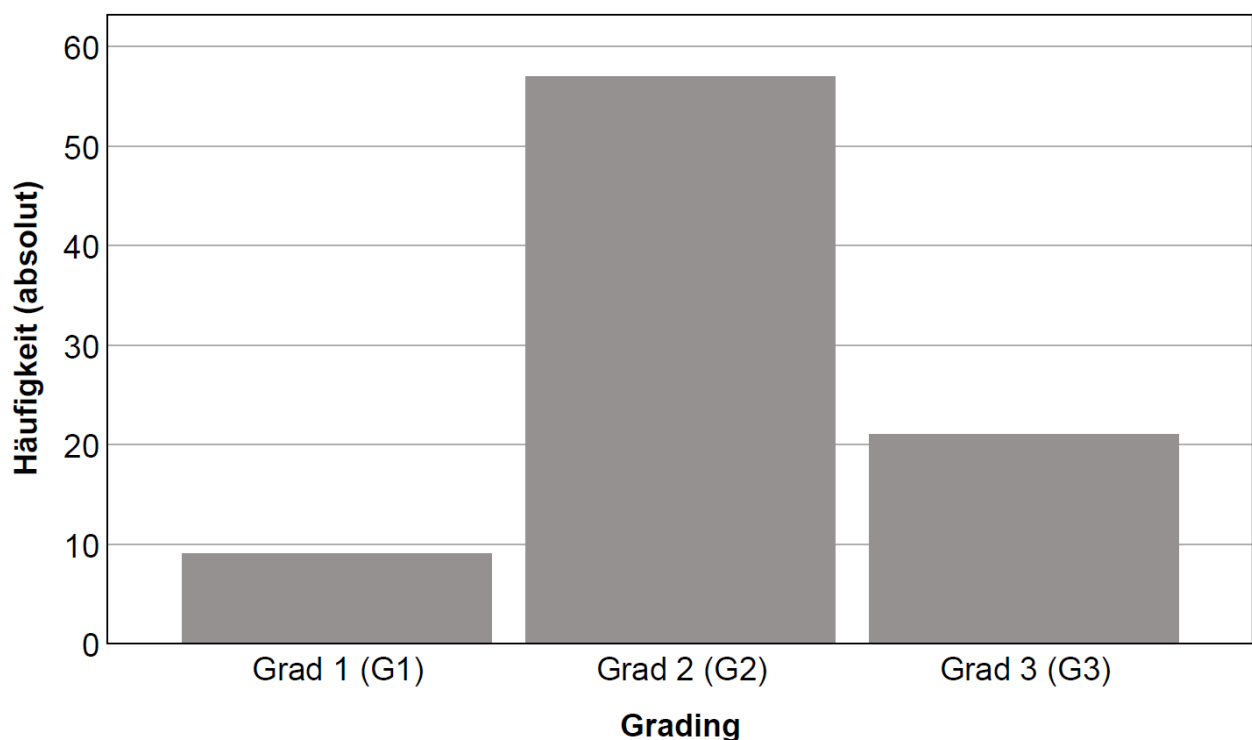


Abb. 13: Häufigkeitsverteilung der Grading-Grade

Gruppe 1 zeigt im Gesamtüberleben, wie in Abbildung 14 zu sehen, eine Verlängerung der Überlebenszeit über im Schnitt 31 Monate. Wie im rezidiv-freien Überleben, in Abbildung 15 zu sehen, ging die Gruppe 1 mit einer im Schnitt 28 Monaten verlängerten Lebenszeit gleichermaßen mit einer besseren Prognose einher. Die maximale Differenz der Verlängerung der Überlebenszeit liegt für das Gesamtüberleben bei 53 Monaten und im rezidiv-freien Überleben bei 50 Monaten zugunsten der Gruppe 1. Für das EK ist das Grading als prognostischer Faktor einzuordnen.

Eine Expression von PD-L1 zeigt sich zu 48 % in der Gruppe des Gradinggrads 3, für die Gruppe der Gradinggrade 1 und 2 lediglich zu 8 %. Im Chi-Quadrat Test nach Pearson errechnete sich für eine positive PD-L1 Anfärbung des Grad 3 eine exakte Signifikanz von 0,0001. PD-L1 kann somit für die Interpretation des Differenzierungsgrads für EK genutzt werden und stellt somit für das Grading einen prognostischen Faktor dar.

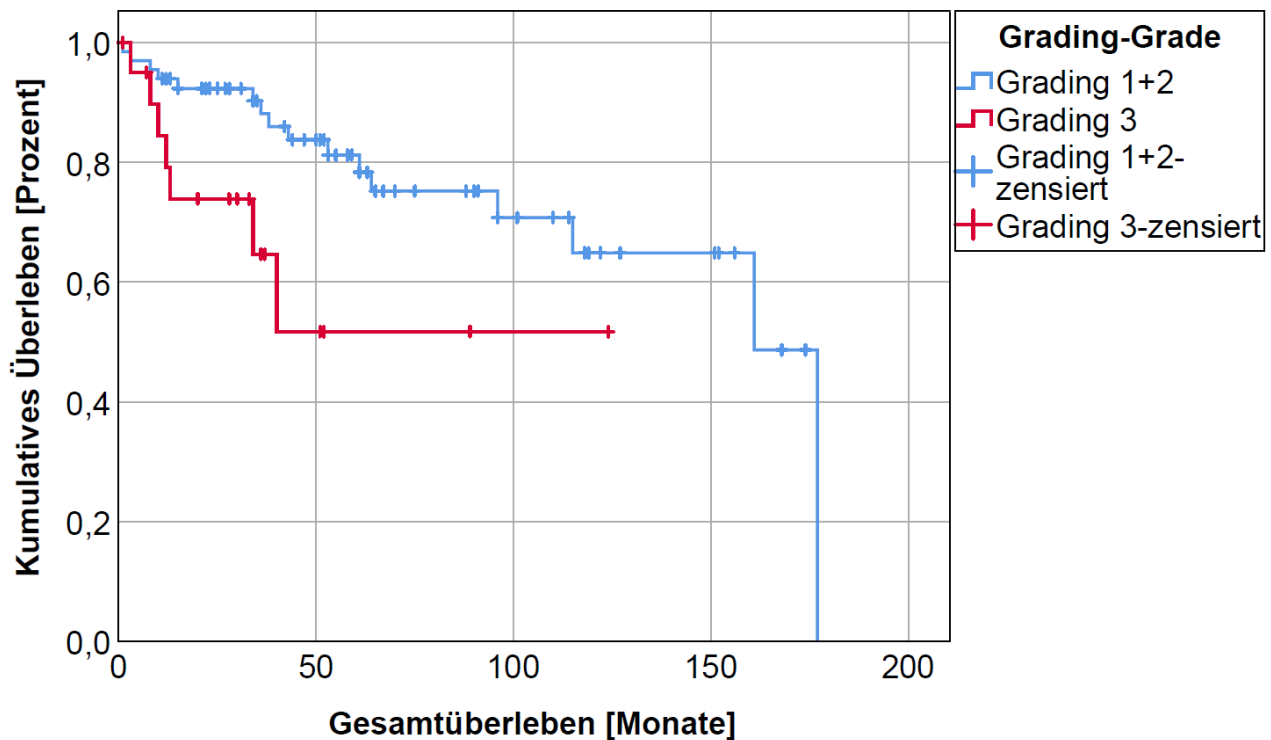


Abb. 14: Kaplan-Meier-Kurve des Gesamtüberlebens für den Prognosefaktor Grading

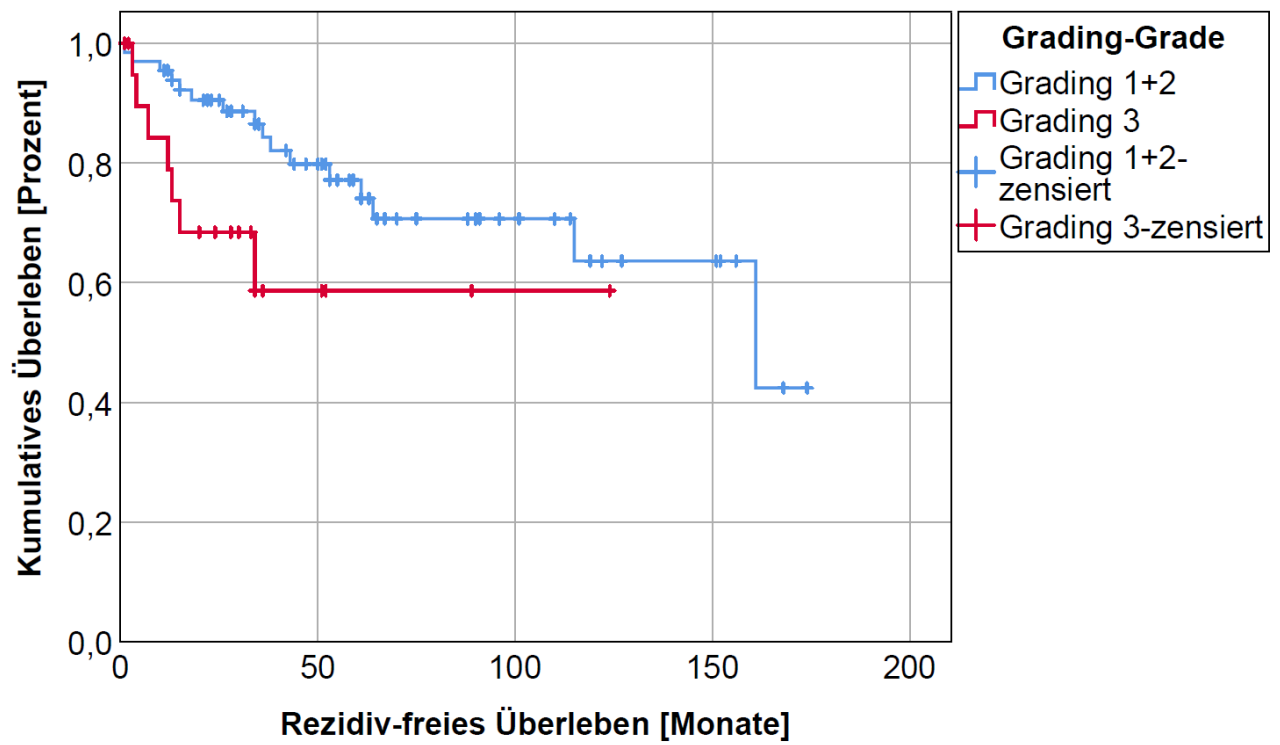


Abb. 15: Kaplan-Meier-Kurve des rezidiv-freien Überlebens für den Prognosefaktor Grading

3.2.3 Prognosefaktor Stadieneinteilung der TMN- + UICC- Klassifikation

Für das Kollektiv der EK-Patientinnen ist eine Einteilung des Tumorstadiums in die Klassifikationssysteme TMN und UICC erfolgt. Die Auswertung dieses Prognosefaktors musste aufgrund einer unzureichenden Datenlage um 2 Patientinnen dezimiert werden. Die verbliebenen 85 Patientinnen teilen sich dabei, wie Abbildungen 16 und 17 zeigen, in sechs verschiedenen Stadien beider Klassifikationen auf. In beiden Klassifikationssystemen zählen zusammengefasst auf die vier Hauptgruppen 66 % (56 Patientinnen) zum Stadium T1 bzw. I, 18 % (15 Patientinnen) zum Stadium T2 bzw. II, 15 % (13 Patientinnen) zum Stadium T3 bzw. III und 1 % (1 Patientin) zum Stadium T4 bzw. IV.

Im Vergleich der Überlebenszeit zeigen sich Gemeinsamkeiten zwischen beiden Systemen. Zur besseren Vergleichbarkeit sind beide Klassifikationssysteme in zwei Gruppen, T1+T2 und T3+T4 sowie I+II und III+IV, aufgeteilt worden. Abbildungen 18 und 19 zeigen Kaplan-Meier-Kurven für das Gesamtüberleben der Patientinnen. Dabei zeigt sich, dass die Gruppen T1+T2 und I+II eine um im Schnitt 15 Monate längere Lebenszeit haben als die Gruppen T3+T4 und III+IV. Das rezidiv-freie Überleben stellen die Kaplan-Meier-Kurven in Abbildungen 20 und 21 dar.

Ebenso, wie in den Kurven des Gesamtüberlebens, sind mit einer im Schnitt um 10 Monate verlängerten Überlebenszeit die Gruppen T1+T2 und I+II mit einer besseren Prognose im Vergleich zu den Gruppen T3+T4 und III+IV zu differenzieren. Wird die maximale Überlebenszeit aus Gruppe T1+T2 / I+II mit der maximalen Überlebenszeit aus Gruppe T3+T4 / III+IV verglichen, zeigt sich ein um 81 Monate verlängertes Gesamtüberleben bzw. ein um 78 Monate verlängertes rezidiv-freies Überleben.

Die PD-L1 Expression zeigt die gleichen Ergebnisse in beiden Klassifikationssystemen. In den Gruppen T1+T2 und I+II lag in 11 % der Fälle eine positive Expression vor, in den Gruppen T3+T4 und III+IV lag sie in 43 % vor. Eine exakte Signifikanz von 0,01 errechnet sich im Chi-Quadrat-Test nach Pearson für eine positive Expression von PD-L1 in den Gruppen T3+T4 und III+IV. Die Expression von PD-L1 kann für die Identifizierung von niedrig differenzierten EK als prognostischer Faktor genutzt werden. Beide Klassifikationssysteme sind für die Prognosestellung von EK als wichtige Faktoren anzusehen.

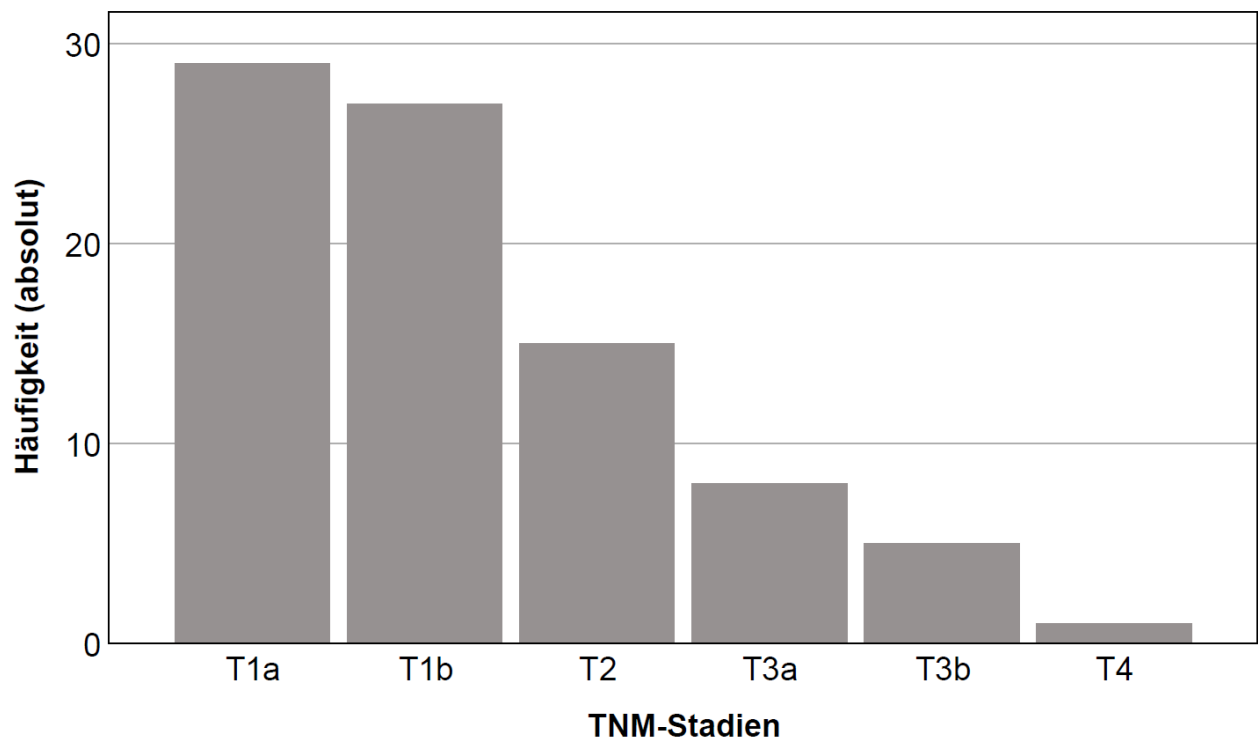


Abb. 16: Häufigkeitsverteilung der TNM-Stadien

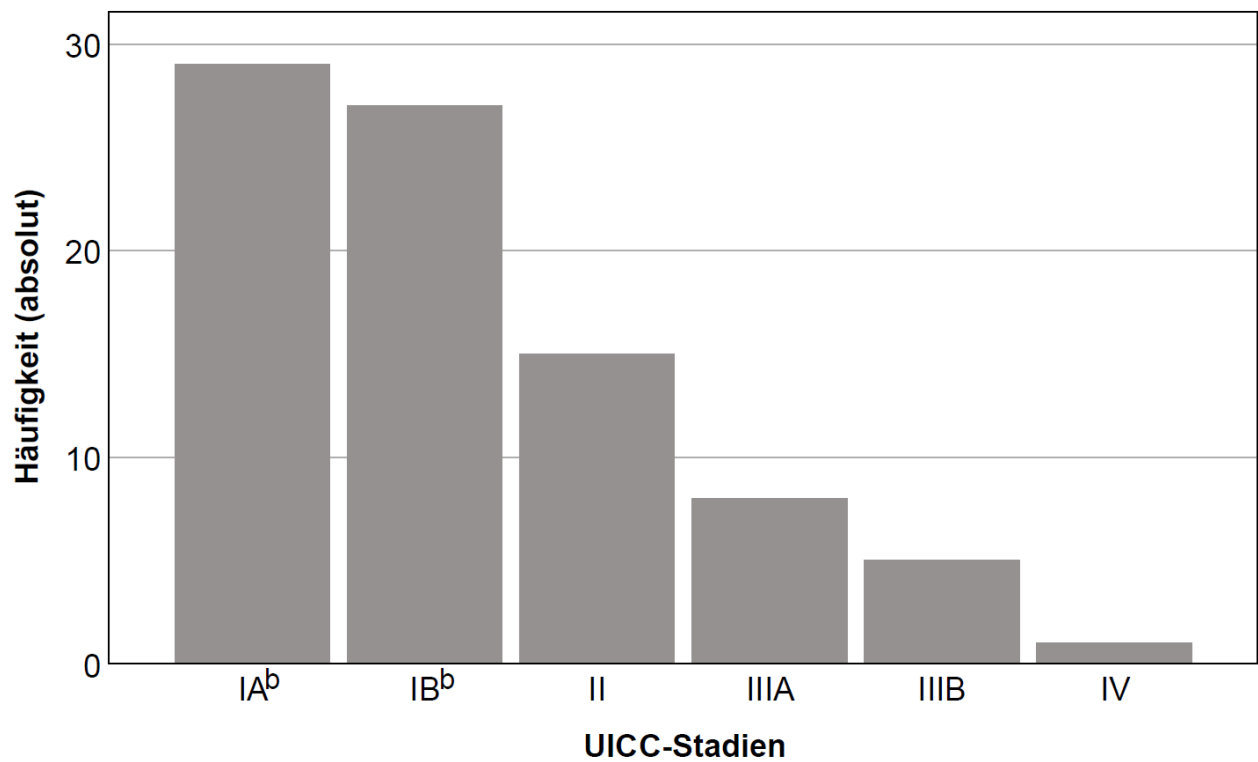


Abb. 17: Häufigkeitsverteilung der UICC-Stadien

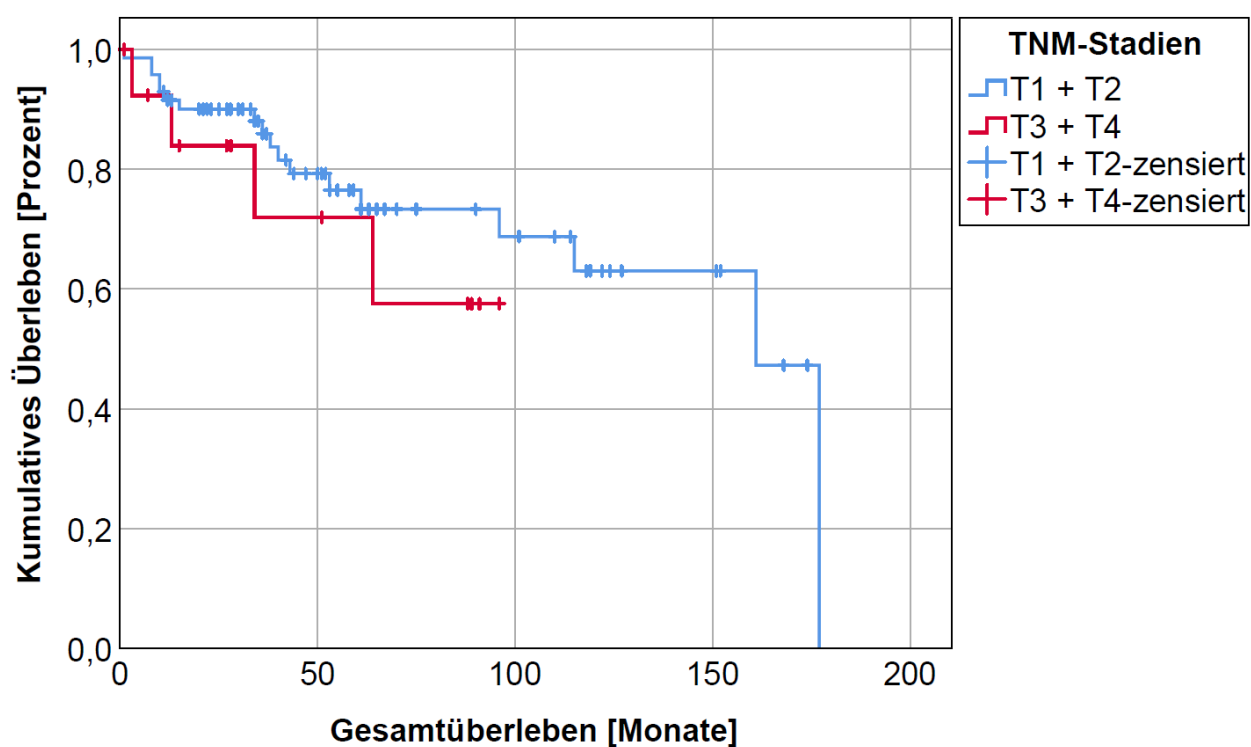


Abb. 18: Kaplan-Meier-Kurve des Gesamtüberlebens für den Prognosefaktor TNM-Klassifikation

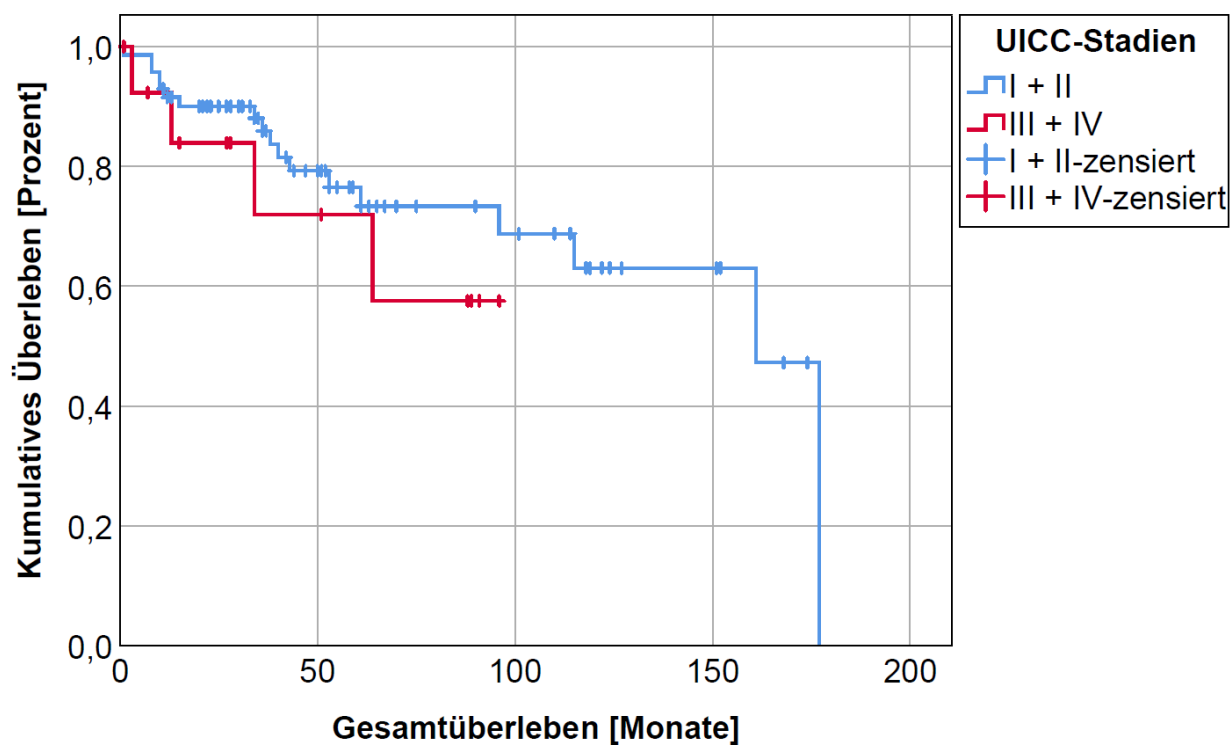


Abb. 19: Kaplan-Meier-Kurve des Gesamtüberlebens für den Prognosefaktor UICC-Klassifikation

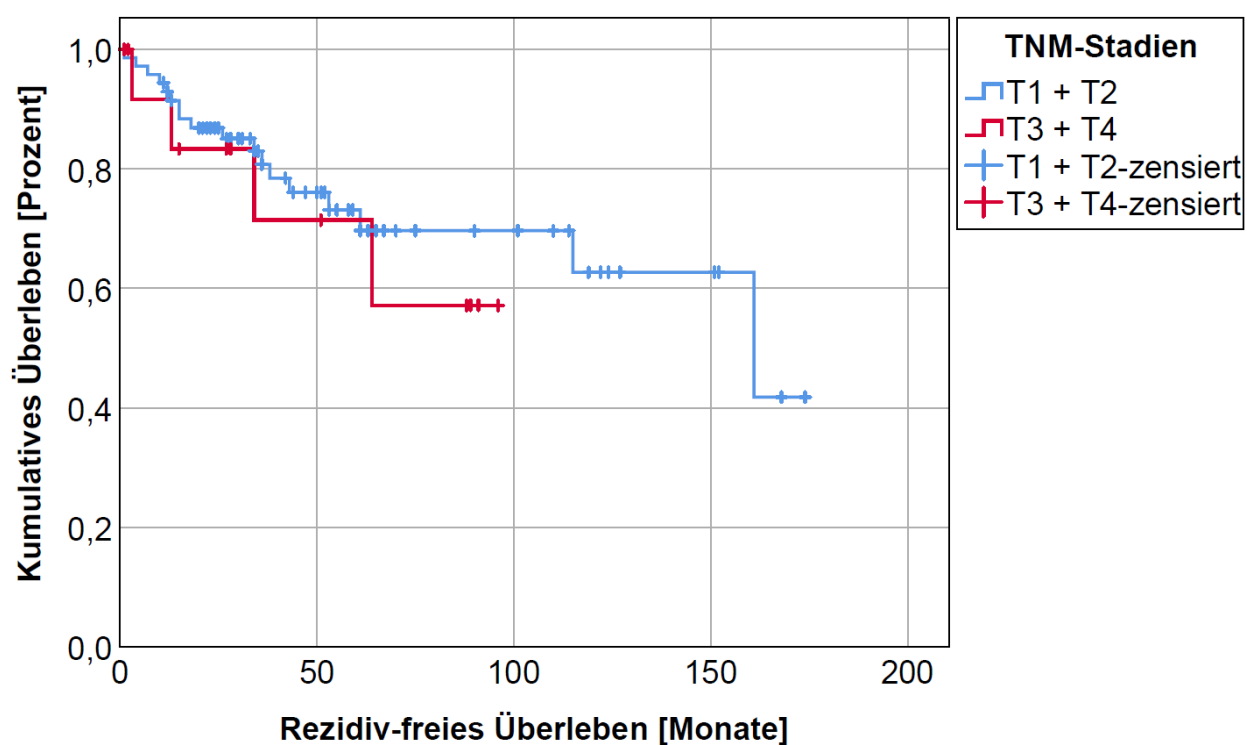


Abb. 20: Kaplan-Meier-Kurve des rezidiv-freien Überlebens für den Prognosefaktor TNM-Klassifikation

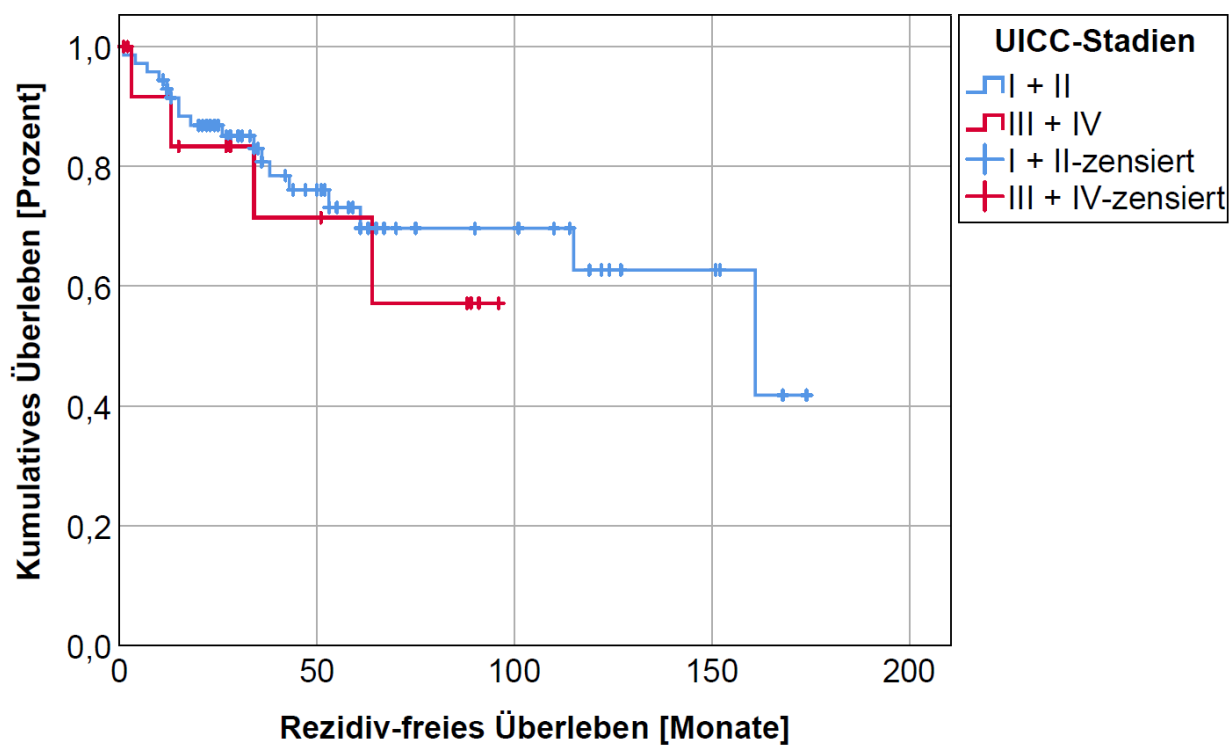


Abb. 21: Kaplan-Meier-Kurve des rezidiv-freien Überlebens für den Prognosefaktor UICC-Klassifikation

3.2.4 Prognosefaktor Metastasierung

Für jede der 87 Patientinnen des Kollektivs ist dokumentiert worden, ob eine Metastasierung im Zeitraum der Studie stattgefunden hat. Bei 94 % des Kollektivs (82 Patientinnen) ist keine Metastasierung aufgetreten. Der Anteil der PD-L1 positiven Fälle ohne stattgefundene Metastasierung beträgt 17 %. In 6 % der Fälle des Kollektivs (5 Patientinnen) war eine Metastasierung bereits erfolgt. Zu diesen zählte ein PD-L1 positiver Fall.

Das Gesamtüberleben (overall survival, OS), sowie das rezidiv-freie Überleben (relapse-free survival, RFS) ist mit Kaplan-Meier-Kurven graphisch dargestellt, siehe Abbildung 22 und 23. In beiden Abbildungen wird zwischen Patientinnen mit Metastasen und Patientinnen ohne Metastasen unterschieden. Die Ergebnisse zeigen, dass der Status der Metastasierung im rezidiv-freien Überleben mit einer unterschiedlichen Zahl an Monaten in der Überlebenszeit einhergeht. Patientinnen ohne Metastasen leben im Schnitt 36 Monate länger als Patientinnen mit Metastasen.

17 % der Patientinnen ohne Metastasen und 20 % der Patientinnen mit Metastasen weisen eine Expression von PD-L1 auf. Dies spiegelt auch der Chi-Quadrat Test nach Pearson wider. Dort wurde für die PD-L1 Expression keinerlei Signifikanz gefunden, die mit dem Faktor Metastasierung im Einklang ist.

Insgesamt stellt sich der Faktor Metastasierung als ein prognostischer Marker dar, dieser steht jedoch in keinem Zusammenhang mit der Anfärberate des Markers PD-L1.

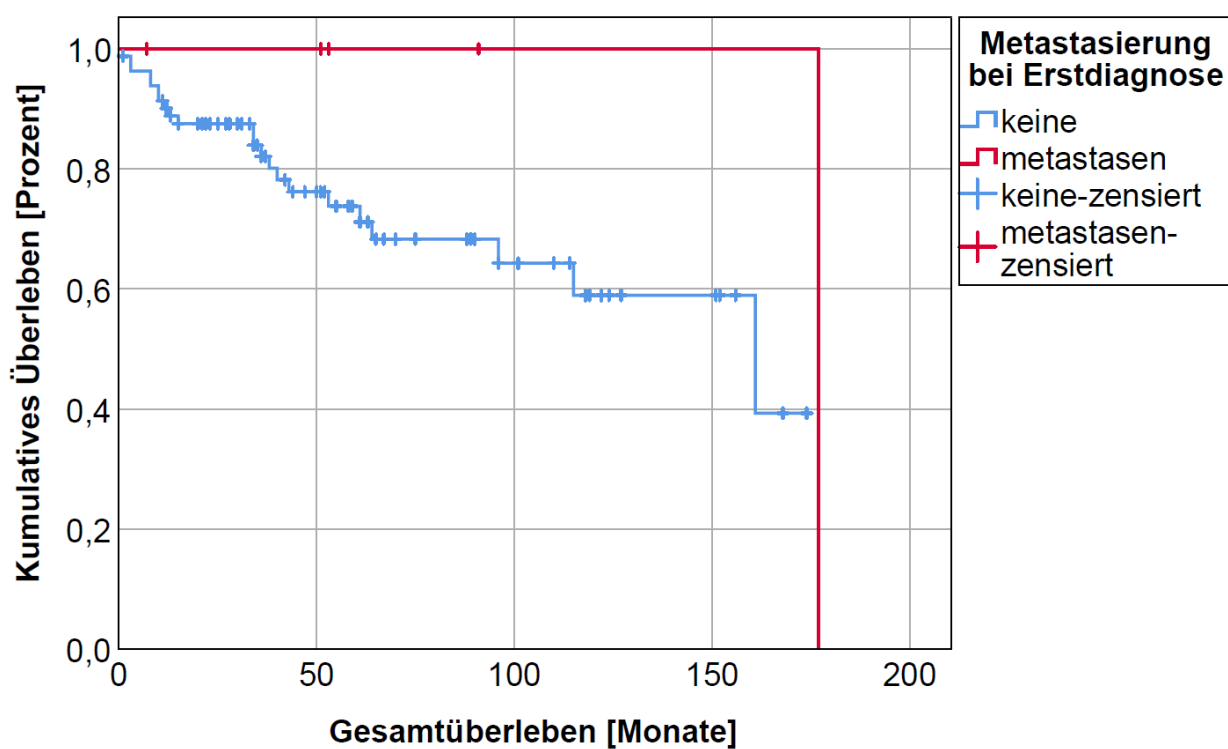


Abb. 22: Kaplan-Meier-Kurve des Gesamtüberleben für den Prognosefaktor Metastasierung

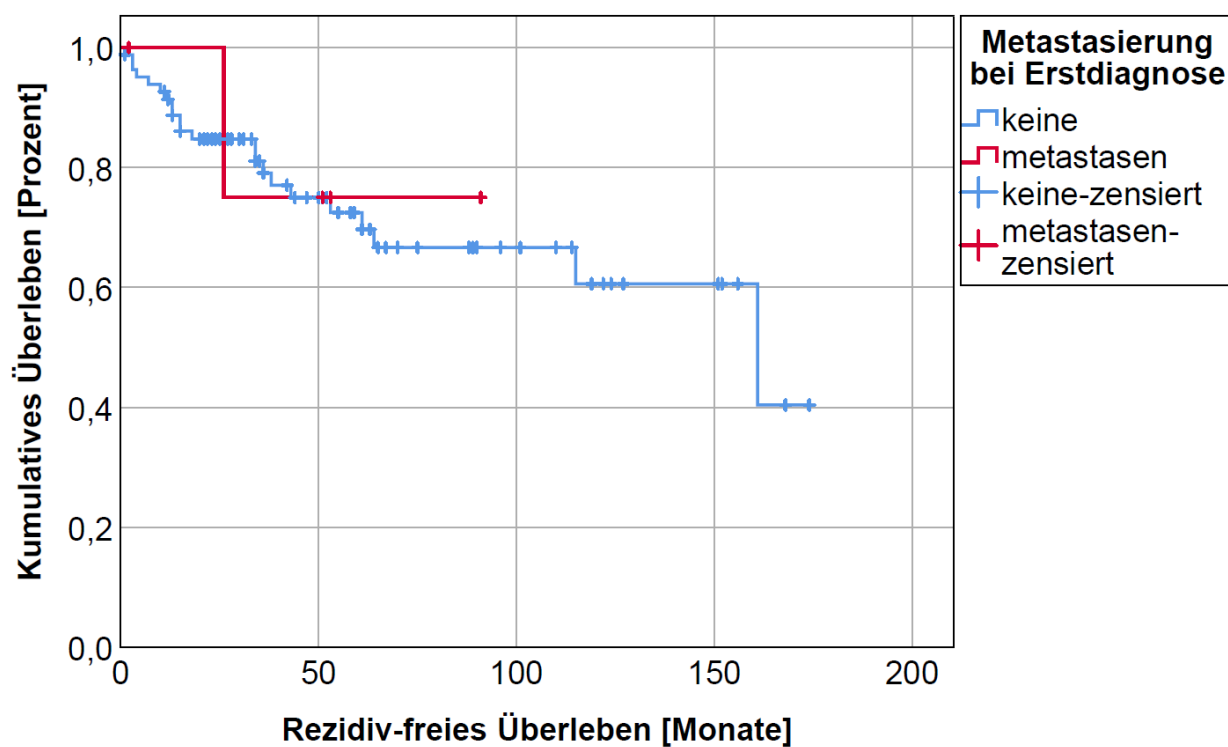


Abb. 23: Kaplan-Meier-Kurve des rezidiv-freien Überlebens für den Prognosefaktor Metastasierung

3.2.5 Prognosefaktor Lymphknotenstatus

Die Erhebung des Lymphknotenstatus (LK-Status) der 87 Patientinnen ist durch zwei verschiedene Verfahren erfolgt: durch eine histologische Auswertung der, im Zuge der Therapie, entnommenen Lymphknoten (LK) oder per Auswertung mittels bildgebender Verfahren im Verlauf des klinischen Screenings. Ob die Erhebung im pathologischen Institut oder im klinischen Verlauf stattgefunden hat, gibt der kleingeschriebene Buchstabe vor dem Ergebnis an. Dabei steht „p“ für eine pathologische Sicherung und „c“ für eine klinische Sicherung des LK-Status. Wenn kein Befall der Lymphknoten stattgefunden hat lautet der Status N0, bei einem positiven Befall N1.

Die Ermittlung des LK-Status setzt sich zu 56 % (49 Patientinnen) aus einer pathologischen und zu 44 % (38 Patientinnen) aus einer klinischen Sicherung der Ergebnisse zusammen. Insgesamt zeigt sich dabei in 85 % (74 Patientinnen) ein negativer und in 15 % (13 Patientinnen) der Fälle ein positiver Befall der LK. Ein Vergleich der Gruppen N0 und N1 im Hinblick auf das Gesamt- und rezidiv-freie Überleben erfolgt mit der Kaplan-Meier-Kurve als statistische Auswertemethode. Abbildung 24 zeigt den Verlauf für das Gesamtüberleben und Abbildung 25 den des rezidiv-freien Überlebens. In beiden Kurven ist zu erkennen, dass ein positiver LK-Status mit einer, in den meisten Fällen, kürzeren Überlebensdauer und damit einer schlechteren Prognose einhergeht. In der Kaplan-Meier-Kurve des rezidiv-freien Überlebens kommt die verlängerte Lebenszeit der Frauen mit einem negativen LK-Status deutlich zur Geltung. Die Differenz der beiden Gruppen beträgt dabei im Schnitt 50 Monate (Vergleich der längsten Lebenszeiten beider Gruppen). Die Aussagekraft des Lymphknotenstatus ist demnach als prognostischer Faktor für das EK nutzbar.

Eine positive PD-L1 Expression wurde bei 15 % der Frauen mit negativem und 86 % der Frauen mit positivem LK-Status nachgewiesen. Mit einer Signifikanz von 0,008 im Chi-Quadrat Test nach Pearson ist die PD-L1 Expression in Bezug auf einen positiven LK-Status somit als prognostischer Faktor für das EK einzustufen. Abbildung 26 bringt die Parallelen der PD-L1 Expression und des LK-Status in der Gruppe mit positivem Status deutlich zum Ausdruck.

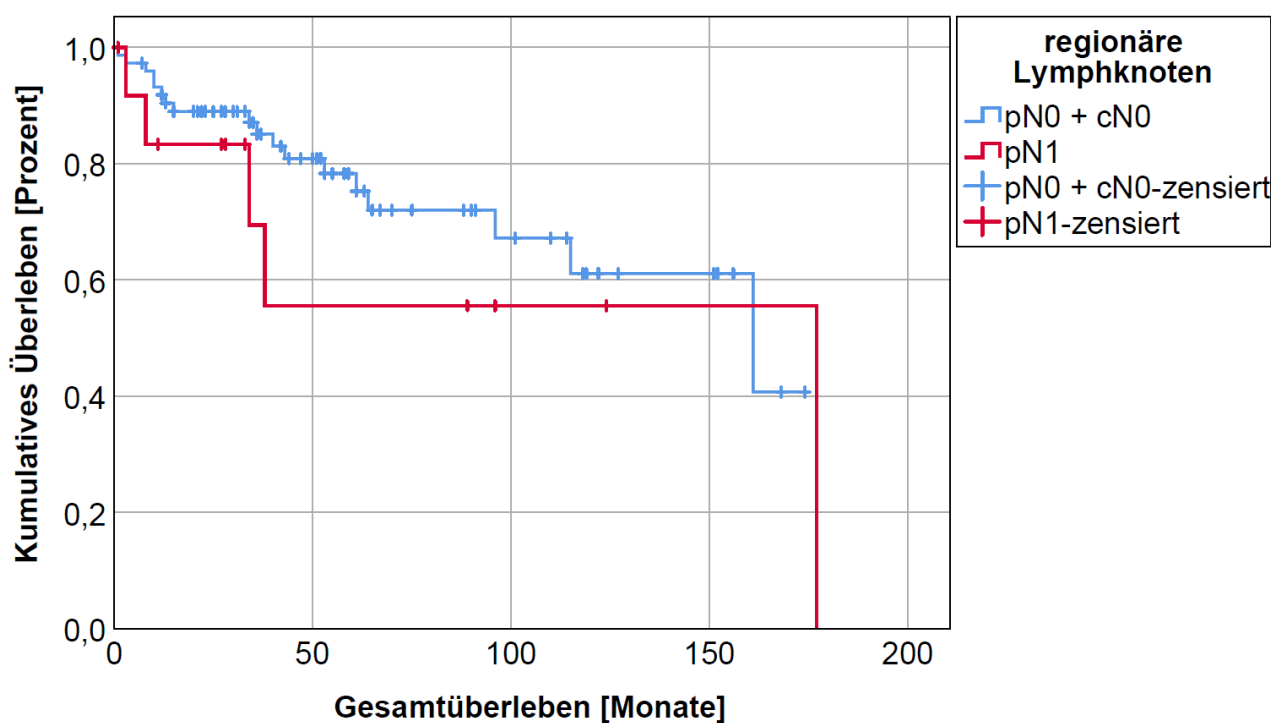


Abb. 24: Kaplan-Meier-Kurve des Gesamtüberlebens für den Prognosefaktor Lymphknotenstatus

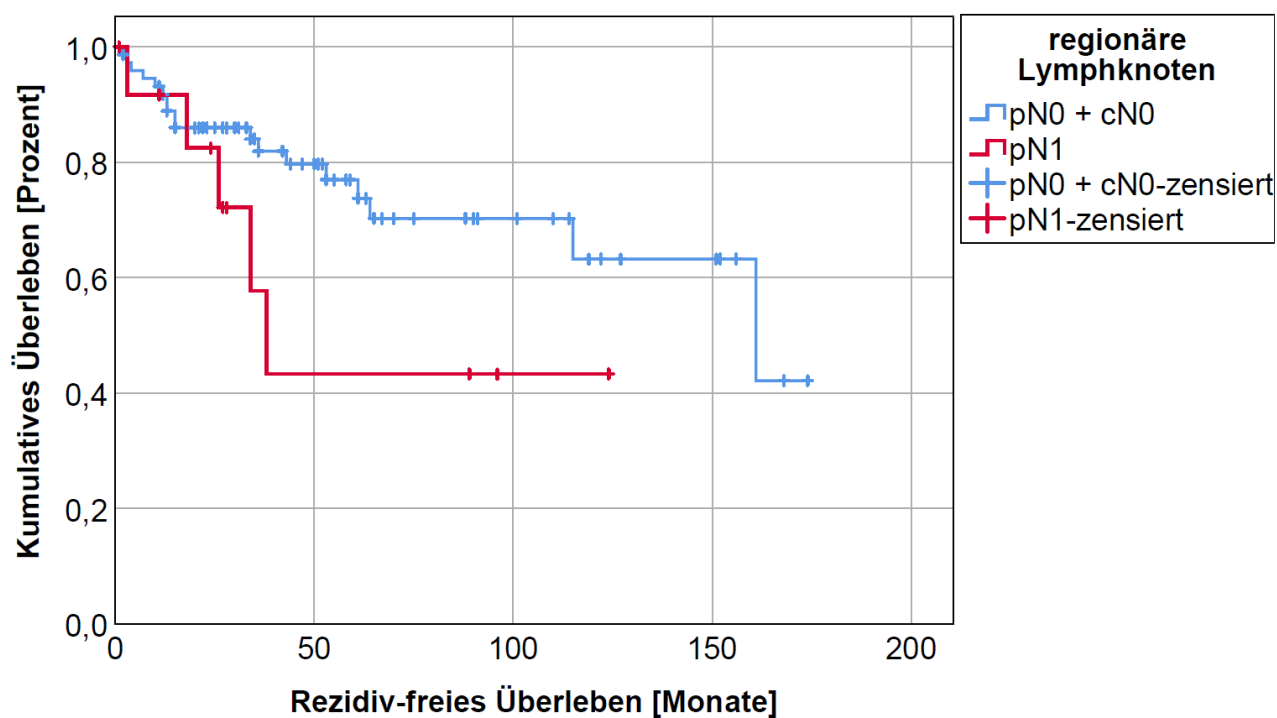


Abb. 25: Kaplan-Meier-Kurve des rezidiv-freien Überlebens für den Prognosefaktor Lymphknotenstatus

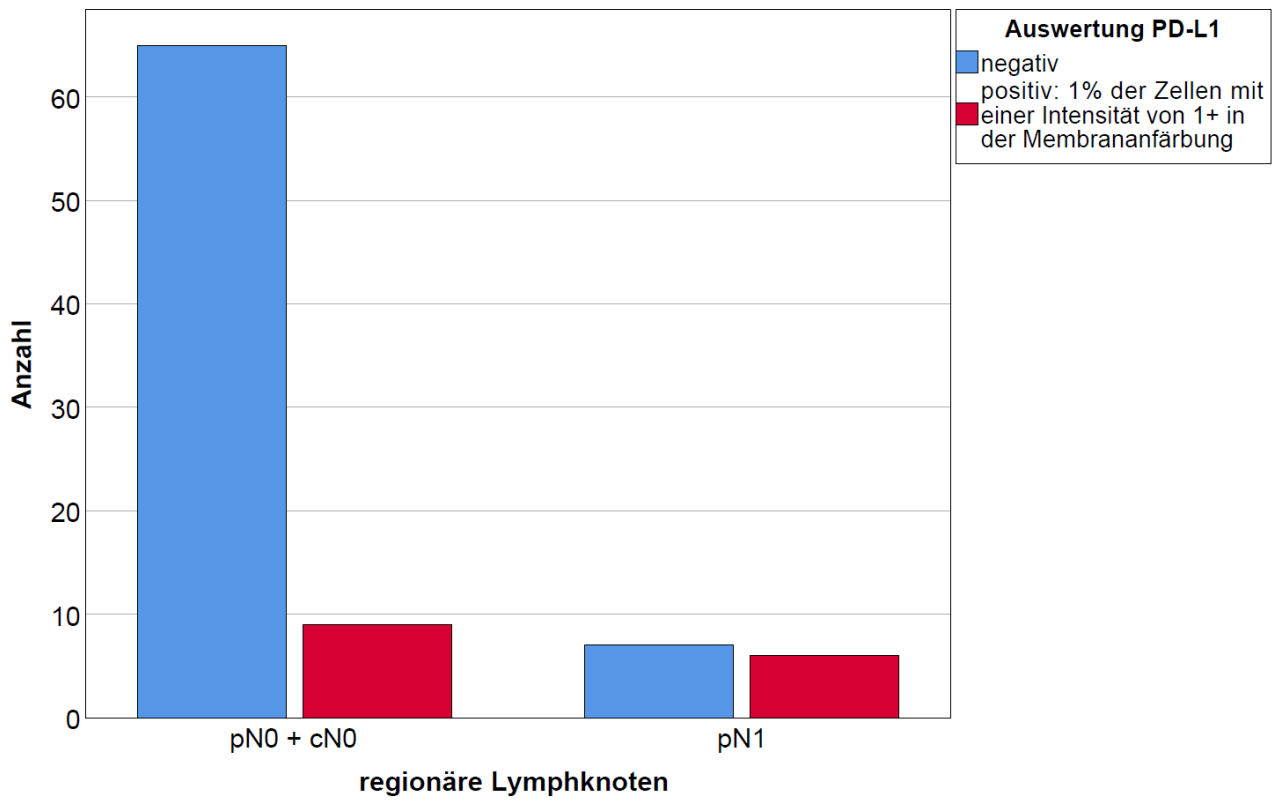


Abb. 26: PD-L1 Expression von Frauen mit positivem und negativem LK-Status im Vergleich

3.2.6 Prognosefaktor Immunreaktionen

Dieses Unterkapitel geht auf die durchgeführten Immunreaktionen ein. Für die Ergebnisse der Expression von PD-L1 wurde nicht nur ein möglicher Einfluss auf das Überleben insgesamt, sondern auch auf den Anteil des rezidiv-freien Überlebens überprüft. Eine bildliche Darstellung erfolgt mittels der Kaplan-Meier Kurven. Für alle weiteren Immunreaktionen ist sowohl eine deskriptive Auswertung der Färbung selbst sowie auch eine prozentuale Verteilung des PD-L1 Status angegeben.

PD-L1

Die Ergebnisse der PD-L1 Expression der 87 EK-Patientinnen zeigen in 17 % (15 Patientinnen) des Kollektivs ein positives Färbeergebnis und in 83 % (72 Patientinnen) ein negatives Färbeergebnis. Das Gesamt- und rezidiv-freie Überleben ist in den Kaplan-Meier-Kurven in den Abbildungen 27 und 28 zu sehen. Eine negative PD-L1 Expression geht mit einer verlängerten Lebenszeit von durchschnittlich 24 Monaten im Gesamt- und 20 Monaten im rezidiv-freien Überleben einher. Im Vergleich der maximalen Überlebenszeit zwischen Patientinnen mit positiver und negativer PD-L1 Ausprägung zeigt sich ein Unterschied von 53 Monaten im Gesamt- und 50 Monaten im rezidiv-freien Überleben zugunsten der Patientinnen mit negativem PD-L1 Status.

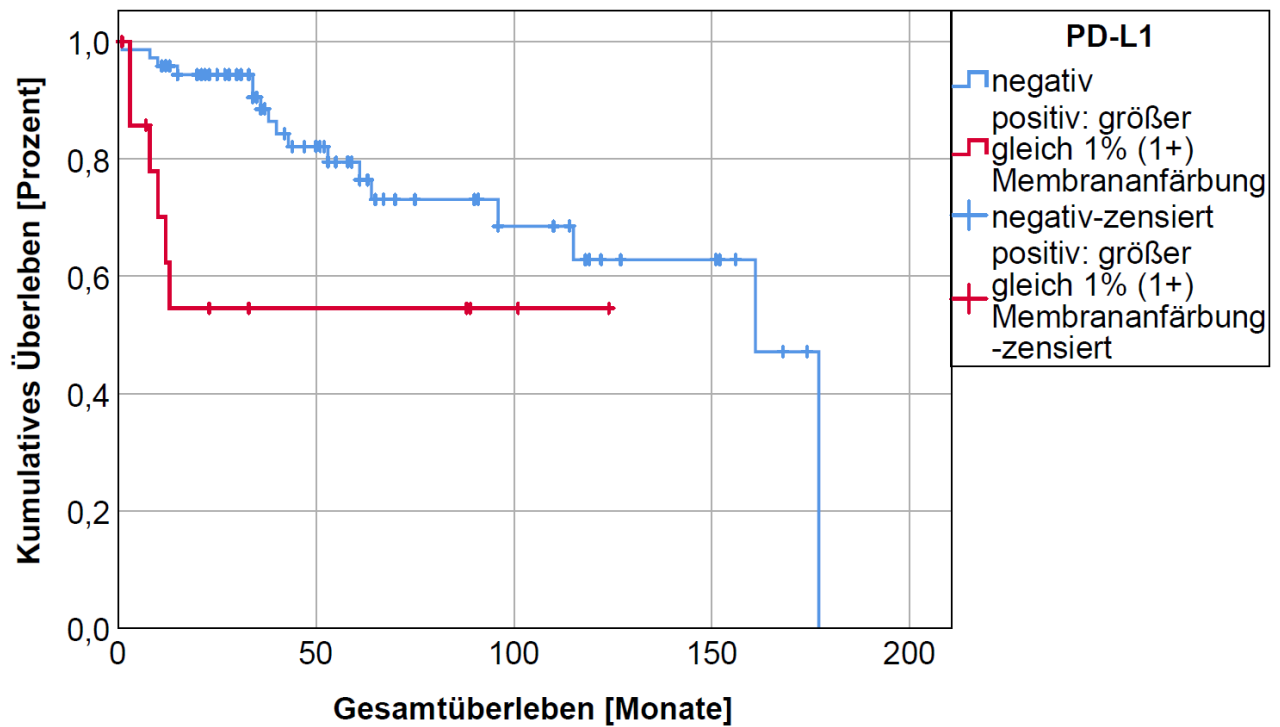


Abb. 27: Kaplan-Meier-Kurve des Gesamtüberlebens anhand des PD-L1 Status

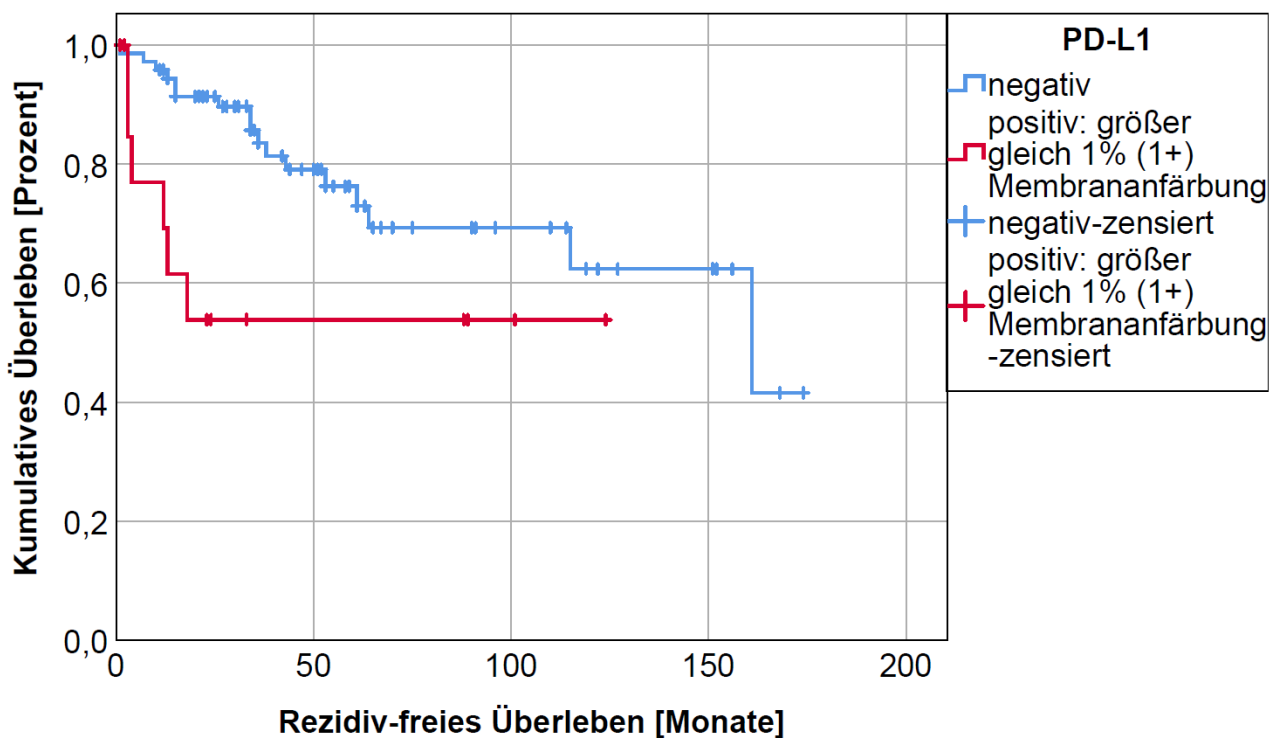


Abb. 28: Kaplan-Meier-Kurve des rezidiv-freien Überlebens anhand des PD-L1 Status

HER2/neu

In der HER2/neu Färbung zeigt sich für 91 % (79 Patientinnen) keine und in 9 % (8 Patientinnen) nur eine schwache Membranfärbung. Die Expression von PD-L1 zeigt ähnlich niedrige Anfärberaten. In der negativen Färbung von HER2/neu zeigt sich ein Anteil von 16 % und in der schwachen Membranfärbung ein Anteil von 25 % für eine PD-L1 Expression. Das Ergebnis der statistischen Auswertung mit dem Chi-Quadrat Test nach Pearson bestätigt mit einem Wert von 0,417, dass die PD-L1 Expression nicht mit der immunhistochemischen HER2/neu Expression korreliert.

Östrogen

Der größte Anteil am Kollektiv in der Östrogenfärbung liegt mit 91 % (79 Patientinnen) deutlich auf der Seite der positiven Fälle, die negativen Fälle liegen bei 9 % (8 Patientinnen). Die PD-L1 Expression liegt bei den negativen Östrogenfällen bei 50 %, bei den Östrogenpositiven bei 14 %. Mit einer errechneten Signifikanz von 0,027 im Chi-Quadrat Test nach Pearson sind EK, welche keine Expression von Östrogenrezeptoren aufweisen, häufiger als erwartet PD-L1 positiv.

Progesteron

Die Ergebnisse der Anfärbung des Progesteronrezeptors zeigen ähnliche Resultate wie die der Östrogenrezeptor-Anfärbung. 25 % des Kollektivs (22 Patientinnen) wiesen keine Expression für Progesteron auf. Darunter zeigen 41 % der Fälle jedoch eine positive PD-L1 Anfärbung. Eine positive Expression für Progesteron liegt in 75 % (65 Patientinnen) der Fälle vor. 9 % der Fälle zeigen zusätzlich eine positive PD-L1 Expression. Der Chi-Quadrat Test nach Pearson führt mit einer Signifikanz von 0,002 zu dem Ergebnis, dass EK, welche keine Expression von Progesteron aufweisen, höchst signifikant häufiger als erwartet PD-L1 positiv sind.

p16

Die Ergebnisse für p16 zeigen in 89 % (77 Patientinnen) eine negative und in 11 % (10 Patientinnen) eine positive Expression. PD-L1 zeigt sich in 12 % der negativen und 60 % der positiven p16 Fälle. Im Chi-Quadrat Test nach Pearson zeigt sich, dass EK mit einer positiven Expression von p16 höchst signifikant häufiger als erwartet PD-L1 positiv sind.

Ki67

Der Ki-67 Index zeigt sich im Kollektiv (84 Patientinnen) mit einer Spannweite von 0,09 % bis zu 79,5 % an positiv gefärbten Zellen. Die mediane prozentuale Anfärbung lag bei 23,7 % der Zellen pro Präparat. Die statistische Auswertung für den Vergleich mit PD-L1 erfolgt mit dem T-Test, einem Test für unabhängige Stichproben. Als Resultat zeigt sich keine Korrelation der Expression des Ki-67 Index mit dem Faktor PD-L1.

3.2.7 Prognosefaktor Lymphozyten-Infiltration

Die Ergebnisse der Lymphozyten-Populationen sind getrennt für den intra- und peritumoralen Abschnitt der Präparate des Kollektivs ausgewertet worden. Dazu gehört die Population der CD3-Zellen (T-Lymphozyten), der CD20-Zellen (B-Lymphozyten) und der CD68-Zellen (Monozyten und Makrophagen). Der PD-L1 Status der Patientinnen wird für jede Zell-Population isoliert für beide Tumoranteile betrachtet.

CD3

Für die T-Lymphozyten (CD3-Zellen) sind 86 Fälle für den intratumoralen Anteil und 84 Fälle für den peritumoralen Anteil des Kollektivs ausgewertet worden. In Tabelle 5 sind alle Zahlen zur Übersicht dargestellt. Die Häufigkeit der gezählten CD3-Zellen zeigt im intratumoralen Anteil der Präparate eine Spannweite von 1 bis 591 Zellen. Im peritumoralen Teil der Präparate sind die CD3-Zellen in einer Häufigkeit von 4 bis 1026 Zellen vorzufinden. Insgesamt liegt die durchschnittliche Anzahl an CD3 Zellen bei 78 im intratumoralen Bereich und bei 218 im peritumoralen Bereich.

Tab. 5: CD3 Zellen im intra- und peritumoralen Anteil beim EK

CD3-Zellen	Intratumoral		Peritumoral	
Auswertbare Fälle	86 von 87		84 von 87	
Spannweite der gezählten Zellen	1 – 591		4 - 1026	
Mittelwert der gezählten Zellen (pro 0,785 mm ²)	78		218	
<i>PD-L1 Status</i>	<i>positiv</i>	<i>negativ</i>	<i>positiv</i>	<i>negativ</i>
Anzahl der Fälle	14 von 86 (16 %)	72 von 86 (84 %)	13 von 84 (15 %)	71 von 84 (85 %)
Mittelwert der Zellzahl (pro 0,785 mm ²)	122	69	348	194

Ein Zusammenhang zwischen der Anzahl an CD3-Zellen und dem PD-L1 Status ist untersucht worden. Die Anzahl der pro Fall gefundenen CD3-Zellen zeigt ein vermehrtes Auftreten bei den Frauen mit positivem PD-L1 Status. In Abbildung 29 ist die Anzahl der Zellen bei Vorliegen eines positiven und negativen PD-L1 Status abgebildet. Anhand der Ergebnisse ist ersichtlich, dass sowohl intra- als auch peritumoral eine größere Anzahl an CD3 Zellen bei positivem PD-L1 Status gefunden werden. Für das intra- und peritumorale CD3 Aufkommen kann im Mann-Whitney-U Test jedoch keine Korrelation zwischen PD-L1 und der immunhistochemischen CD3 Expression nachgewiesen werden. Beim Vergleich der Mittelwerte der intratumoralen Zellzahl finden sich für positive EK 122 T-Lymphozyten pro 0,785 mm² und 69 T-Lymphozyten für negative EK. Die Verteilung der Mittelwerte der peritumoralen Zellzahl liegt bei positivem PD-L1 Status des EKs bei 348 T-Lymphozyten pro 0,785 mm² und 194 T-Lymphozyten für negative EKs. Beim Vergleich des Mittelwerts der Patientinnen mit pos. und neg. PD-L1 Status zeigt sich ein identisches Verhältnis der Zellzahlen im intra- und peritumoralen Bereich. Der Mittelwert der Zellzahl bei pos. PD-L1 Status liegt sowohl intra- als auch peritumoral um den Faktor 1,7 erhöht im Vergleich zum neg. PD-L1 Status.

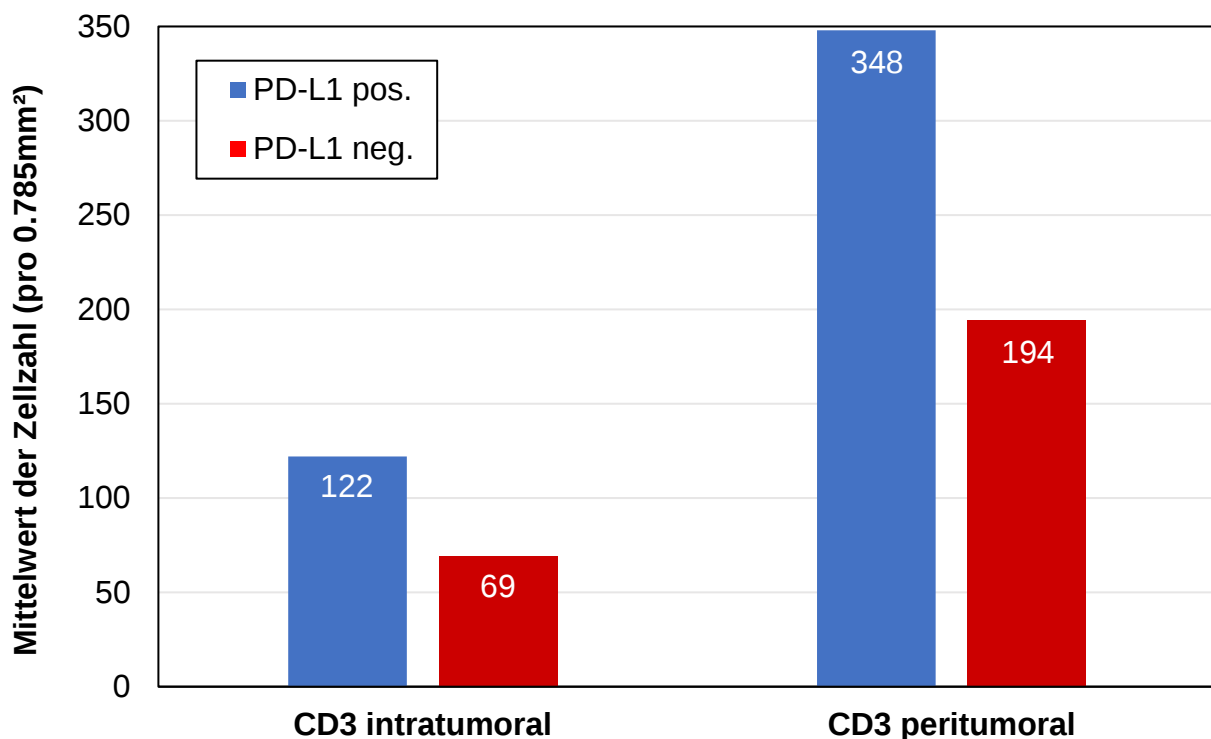


Abb. 29: Vergleich der durchschnittlichen CD3 Zellzahl im intra- und peritumoralen Gewebe mit Differenzierung des PD-L1 Status der EK-Patientinnen

CD20

Für die B-Lymphozyten (CD20-Zellen) sind sowohl für den intra- als auch für den peritumoralen Bereich 86 Fälle des Kollektivs beurteilt worden. Alle Zahlen sind in Tabelle 6 dargestellt. Im intratumoralen Bereich der CD20-Zellen liegt die Spannweite der Zellzahlen bei 0 bis 177 Zellen. Für den peritumoralen Bereich sind 0 bis 2651 Zellen nachgewiesen worden. Im Schnitt wurden intratumoral 4 Zellen und peritumoral 73 Zellen pro Fall nachgewiesen.

Tab. 6: CD20 Zellen im intra- und peritumoralen Anteil beim EK

CD20-Zellen	Intratumoral		Peritumoral	
Auswertbare Fälle	86 von 87		86 von 87	
Spannweite der gezählten Zellen	0 – 177		0 - 2651	
Mittelwert der gezählten Zellen (pro 0,785 mm ²)	4		73	
<i>PD-L1 Status</i>	<i>positiv</i>	<i>negativ</i>	<i>positiv</i>	<i>negativ</i>
Anzahl der Fälle	14 von 86 (16 %)	72 von 86 (84 %)	15 von 86 (17 %)	71 von 86 (83 %)
Mittelwert der Zellzahl (pro 0,785 mm ²)	19	1	256	33

Ein Zusammenhang zwischen dem PD-L1 Status und der Anzahl der CD20 Zellen ist beurteilt worden. Die Verteilung der PD-L1 negativen und positiven Fälle ähnelt den Ergebnissen der CD3 Auswertung. Die durchschnittliche Anzahl der Zellen bei Vorliegen eines pos. und neg. PD-L1 Status ist in Abbildung 30 abgebildet. Es spiegelt sich ein stärkeres Aufkommen von CD20 Zellen im peritumoralen Gewebe wider. Im Vergleich zu EK mit neg. PD-L1 Status zeigt sich bei EK mit einem PD-L1 pos. Status sowohl intra- als auch peritumoral eine größere Zellzahl.

Der Mittelwert der Frauen mit PD-L1 positivem Status liegt intratumoral bei 19 B-Lymphozyten pro 0,785 mm². Bei Patientinnen mit neg. PD-L1 Status liegt der Mittelwert des intratumoralen Bereichs bei einem B-Lymphozyten pro 0,785 mm². Peritumoral liegen die Mittelwerte für Frauen mit pos. PD-L1 Status bei 265 B-Lymphozyten pro 0,785 mm², beim negativen Status bei 33 B-Lymphozyten pro 0,785 mm².

Im Mann-Whitney-U Test zeigt sich in der intratumoral Zellanordnung eine Korrelation mit dem Aufkommen an B-Lymphozyten. Die Anzahl an CD20 Zellen ist im Vergleich zum peritumoral Bereich signifikant erhöht. Bei Vergleich der Mittelwerte der Zellzahl zwischen pos. und neg. PD-L1 Status fällt ein unterschiedliches Verhältnis auf. Dieser ist in PD-L1 pos. EK intratumoral 19-fach und peritumoral 8-fach erhöht in Referenz zu PD-L1 neg. EK.

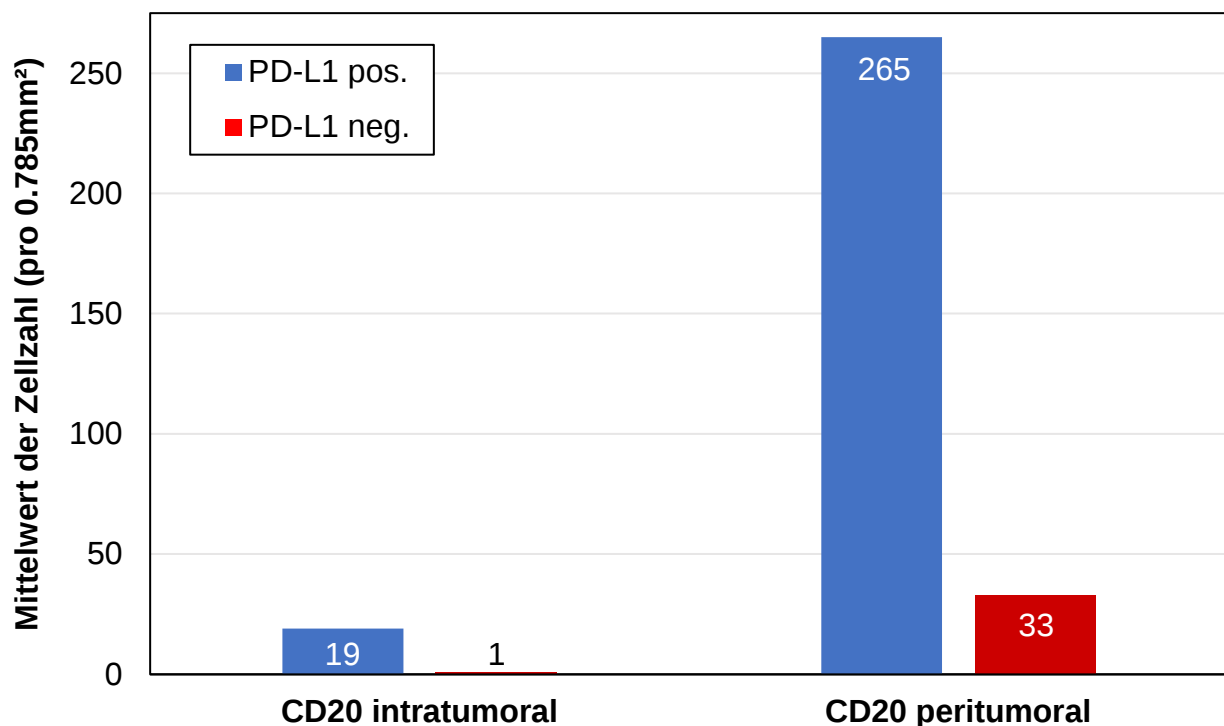


Abb. 30: Vergleich der durchschnittlichen CD20 Zellzahl im intra- und peritumoralen Gewebe mit Differenzierung des PD-L1 Status der EK-Patientinnen

CD68

Das gesamte Kollektiv (87 Patientinnen) ist für die Auswertung des intra- und peritumoralen Anteils der Monozyten und Makrophagen (CD68-Zellen) genutzt worden. Alle genannten Zahlen sind zur Übersicht in Tabelle 7 dargestellt. Intratumoral lässt sich eine Spannweite von 0 bis 31 gezählten Zellen finden. Peritumoral liegt sie bei 5 bis 447 Zellen. Durchschnittlich wurden intratumoral 3 Zellen und peritumoral 84 Zellen pro Fall gefunden.

Tab. 7: CD68 Zellen im intra- und peritumoralen Anteil beim EK

CD68-Zellen	Intratumoral		Peritumoral	
Auswertbare Fälle	87 von 87		87 von 87	
Spannweite der gezählten Zellen	0 - 31		5 - 477	
Mittelwert der gezählten Zellen (pro 0,785 mm ²)	3		84	
PD-L1 Status	<i>positiv</i>	<i>negativ</i>	<i>positiv</i>	<i>negativ</i>
Anzahl der Fälle	15 von 87 (16 %)	72 von 87 (84 %)	15 von 87 (15 %)	72 von 87 (85 %)
Mittelwert der Zellzahl (pro 0,785 mm ²)	3	3	134	74

Ein Zusammenhang zwischen der Anzahl an CD68-Zellen und dem PD-L1 Status ist geprüft worden. Intratumoral liegt der Durchschnitt der Monozyten und Makrophagen, sowohl bei Patientinnen mit negativem als auch bei Patientinnen mit positivem PD-L1 Status, bei 3 Zellen pro 0,785 mm². Peritumoral findet sich bei Patientinnen mit positivem PD-L1 Status eine größere Zellzahl im Vergleich zum intratumoralen Bereich. Bei Patientinnen mit positivem PD-L1 Status sind peritumoral im Durchschnitt 134 Monozyten und Makrophagen pro 0,785 mm² gefunden worden. Bei negativem PD-L1 Status

der Frauen liegt der Durchschnittswert der Monozyten und Makrophagen im peritumoralen Bereich bei 74 Zellen pro 0,785 mm².

Eine Darstellung der Mittelwerte der Zellzahl für den intra- und peritumoralen Bereich in Bezug auf den PD-L1 Status ist in Abbildung 31 zu sehen. Die peritumorale Zellzahl der CD68 Zellen weist im Mann-Whitney U Test für Patientinnen mit positivem PD-L1 Status eine Korrelation auf. Der Mittelwert der Zellzahl bei Patientinnen mit einem positiven PD-L1 Status ist um den Faktor 1,8 erhöht in Referenz zu Patientinnen mit negativem Status. Intratumoral ist kein Unterschied im Zellzahl-Verhältnis bei Frauen mit positivem und negativem PD-L1 Status festzustellen.

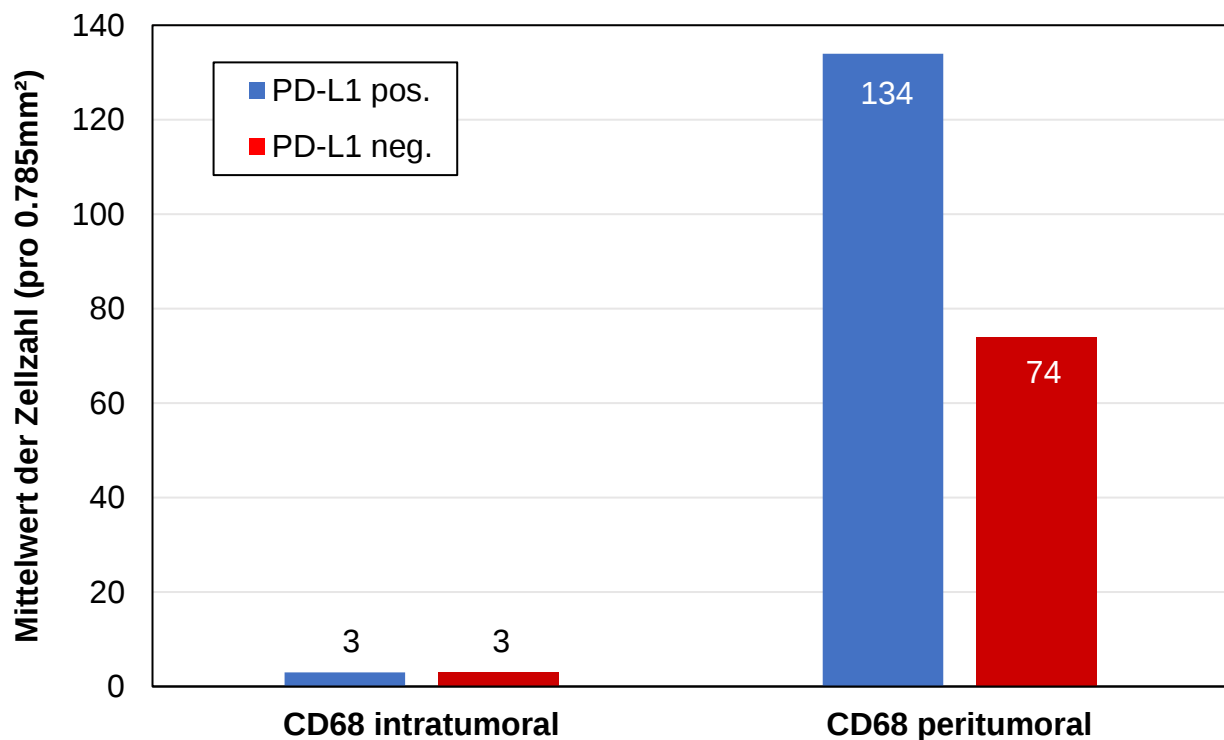


Abb. 31: Vergleich der durchschnittlichen CD68 Zellzahl im intra- und peritumoralen Gewebe mit Differenzierung des PD-L1 Status der EK-Patientinnen

4. Diskussion

Endometriumkarzinome (EK) zählen weltweit zu den häufigsten gynäkologischen Tumoren. Mit einer jährlichen Inzidenz der Neuerkrankungsrate von 142.000 nimmt das EK global die siebte Stelle der Malignom-Erkrankungen der Frau ein (Kaatsch et al., 2017). Obwohl mit Hilfe der Epidemiologie bereits einige Risikofaktoren für die Entstehung eines EK entdeckt werden konnten, gibt es für asymptotische Frauen, im Sinne einer Früherkennung, keine effektive Vorsorgeuntersuchung (Emons et al., 2019). Ein besonderes Augenmerk des Therapie-Algorithmus liegt daher auf prognostischen Faktoren des EKs. Mit deren Hilfe kann nicht nur eine Aussage zur Prognose der Patientinnen, sondern auch die bestmögliche Therapie ausgewählt und eingeleitet werden. Zu diesen Prognosefaktoren zählen bereits langjährig etablierte Faktoren, wie der histologische Subtyp des EKs, das Grading, die Klassifikationssysteme TNM und UICC sowie der Status der Metastasierung und der Lymphknotenbefall (Steiner et al., 2012).

Mit einem zwischen dem 60. und 70. Lebensjahr liegenden Häufigkeitsgipfel ist das EK eine Erkrankung der Frau im fortgeschrittenen Alter (Kaatsch et al., 2017; Kiechle und Schlag, 2017). Durch einen, besonders in Deutschland, stark fortschreitenden demographischen Wandel und die damit immer älter werdende Bevölkerung rückt die Erforschung neuer prognostischer Faktoren, wie z.B. Zellmarker, weiter in den Fokus der Forschung. In der Krebsforschung liegt der Schwerpunkt im Bereich der Zellmarker auf der Untersuchung von Biomarkern (Emons et al., 2019; Pfarr et al., 2017).

Der Marker PD-L1 (Programmed Cell Death Ligand 1) ist der Biomarker, der in der Immunonkologie am häufigsten genutzt wird (Schildhaus, 2018).

In der Immuntherapie sind bei einigen Tumorentitäten bereits erste Erfolge mit diesem Marker zu verzeichnen. Dazu zählen unter anderem das nicht-kleinzellige Lungenkarzinom, das maligne Melanom und das Harnblasenkarzinom (Hamanishi et al., 2016).

Die Datenlage bezüglich der PD-L1 Expression des EK und einer damit verbundenen Therapiemöglichkeit des EK ist aktuell noch nicht ausreichend erforscht (Kucukgoz Gulec et al., 2019).

In dieser Arbeit wurde die Expressionsrate von PD-L1 am operativ entfernten Tumorgewebe von EK-Patientinnen ausgewertet. Ziel dieser Auswertung war es, herauszufinden, ob der Biomarker PD-L1 für das Gesamtüberleben der Patientinnen mit EK als

prognostischer Faktor genutzt werden kann. Das Oberflächenprotein PD-L1 zeigt in der statistischen Auswertung eine signifikant stärkere Expression bei EK mit schlechter Differenzierung (EK Typ-II) im Vergleich zu EK mit guter Differenzierung (EK Typ-I). Eine ähnliche Korrelation zwischen PD-L1 Expression und schlechter differenzierten EK weist die Studie von Li et al. (2017) auf.

Die Ergebnisse der Arbeit zeigen zudem eine Korrelation zwischen der PD-L1 Expression und einer verkürzten Überlebenszeit sowohl im Gesamt- als auch im rezidiv-freien Überleben. Vergleichbare Zusammenhänge finden sich in der Arbeit von Kucukgoz Gulec et al. aus dem Jahr 2019. Dort wurde die Expression von PD-L1 in Tumorarealen des EK Typ II und einer damit assoziierten kürzeren Überlebenszeit nachgewiesen. Die PD-L1 Expression für das Typ-II EK erwies sich als unabhängiger prognostischer Faktor. Letzteres stellt sich in dieser Arbeit nicht heraus.

Um eine alleinstehende Aussagekraft von PD-L1 zu überprüfen, wurde eine weiterführende statistische Analyse des Überlebens der Patientinnen mittels einer Cox-Regression durchgeführt. Diese Analyse dient dazu etablierte Prognosefaktoren mit neuen Markern, die in der Einzelauswertung ein signifikantes Ergebnis zeigen, zu vergleichen. Das Ergebnis der Cox-Regression bestimmt, ob der neue Marker eine gewinnbringende Information zu den bereits manifestierten Prognosefaktoren beinhaltet.

In diesem Vorgang sind die Ergebnisse der PD-L1 Expression mit manifestierten Prognosefaktoren des EKs, wie den TMN- und UICC-Stadien, verglichen worden. Das Ergebnis der Cox-Regression zeigt, dass die Expression des Faktors PD-L1 keine zusätzliche Information neben bereits existierenden Parametern, wie TNM-Klassifikation und UICC-Stadien, aufweist.

Fokussierend auf die prozentuale Verteilung des histologischen Subtyps fällt auf, dass in dieser Arbeit mit 94 % der hauptsächlich vertretene histologische Subtyp das EK Typ-I ist. Im Kontrast dazu basiert die Arbeit von Kucukgoz Gulec et al. (2019) ausschließlich auf EK Typ-II. Somit bleibt zu diskutieren, ob die PD-L1 Expression für alle Subentitäten des Endometriumkarzinom gemeinsam als unabhängiger prognostischer Faktor zu erachten oder eine Differenzierung hinsichtlich des histologischen Subtyps erforderlich ist.

Neben der unterschiedlichen Zusammensetzung des Patientinnen-Kollektivs bezüglich des histologischen Subtyps zählt Li et al. (2017) weitere Probleme auf, die das Vergleichen von Ergebnissen erschweren. Dazu gehören neben Unterschieden in der Gruppengröße oder des Studiendesigns auch Unterschiede in der Methodik, wie die Nutzung uneinheitlicher „Cut-off“-Grenzwerte oder variierende PD-L1-Antikörper.

In einigen Studien, unter anderem Ono et al. (2019) und Li et al. (2017), konnte eine Assoziation zwischen der tumoralen PD-L1 Expression und dem Verlust an Mismatch-Reparaturproteinen nachgewiesen werden. Der Nachweis von CD8-Lymphozyten in undifferenzierten EK korrelierte in der Arbeit von Ono et al. (2019) mit einer erniedrigten Anzahl an Mismatch-Reparaturproteinen. Vergleichende Ergebnisse verzeichnete die Studie von Li et al. (2017) an EK vom endometrioiden, klarzelligen und serösen histologischen Typ.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich, im Vergleich zu den zuvor genannten Studien, mit der Untersuchung des tumoralen EK Gewebes auf T-Lymphozyten (CD3-Zellen), B-Lymphozyten (CD20-Zellen) sowie Monozyten und Makrophagen (CD68-Zellen). Dabei findet sich eine Korrelation zwischen Patientinnen mit positivem PD-L1 Status und der Zellzahl in zwei der drei untersuchten Zell-Populationen. Die Zellzahl der B-Lymphozyten (CD20-Zellen) zeigt intratumoral eine signifikant erhöhte Zellzahl bei Patientinnen mit einem positiven PD-L1 Status im Vergleich zu Patientinnen mit negativem Status. Vergleichbare Ergebnisse sind peritumoral in der Auswertung der Monozyten und Makrophagen (CD68-Zellen) gefunden worden. Bei Patientinnen mit PD-L1 Expression ist eine statistisch signifikante Erhöhung der Zellzahl im peritumoralen Bereich im Vergleich zu Frauen ohne PD-L1 Expression ersichtlich. In der T-Lymphozyten Population (CD3-Zellen) wird keine Korrelation mit einer PD-L1 Expression nachgewiesen.

Bei der Gegenüberstellung der Mittelwerte aller drei Zellpopulationen fällt auf, dass in allen Populationen eine erhöhte Zellzahl peritumoral zu verzeichnen ist und zudem dort die PD-L1 positive Expression dominiert. Diese positive Expression spricht für eine adäquate Erkennung des vorhandenen Tumorgewebes durch die Immunzellen. Die PD-L1 Expression des Tumorgewebes führt zu einer Hemmung der Immunzell-getriggerten Tumorzellzerstörung. Eine Antikörpertherapie gegen PD-L1 verhindert dessen Bindung an den PD-1 Rezeptor, sodass die Immunzell-Antwort initiiert werden kann.

Eine vermehrte Lymphozyten Infiltration konnte in der Studie von Pakish et al. (2017) insbesondere in Tumoren mit hoher Mikrosatelliteninstabilität beobachtet werden. Zur Beurteilung der Mikrosatelliteninstabilität im EK erfolgte eine Differenzierung der Makrophagenanzahl im Tumorgewebe zwischen sporadisch auftretendem und vererbtem Lynch Syndrom. Die Studienergebnisse für das sporadisch auftretende Lynch Syndrom gingen mit einer erhöhten Anzahl an Makrophagen im Tumorgewebe einher, eine verminderte Anzahl hingegen war beim vererbten Lynch-Syndrom nachweisbar.

In Zusammenschau der genannten Studien lässt sich erkennen, dass ein Zusammenhang zwischen dem Verlust von Mismatch-Reparaturproteinen und einer signifikanten PD-L1 Expression nicht von der Hand zu weisen ist. Zudem fällt auf, dass dies insbesondere auf EK mit schlechter Differenzierung zutrifft.

Eine Assoziation zwischen der Lymphozyten-Infiltration fokussierend auf eine Makrophagen-Infiltration ist in der hier vorliegenden Studie nicht nachweisbar. Verglichen mit den Ergebnissen der Studie von Pakish et al. (2017) stellt sich die Frage, ob neben der Makrophagen Infiltration weitere Zellreihen als Marker zur Beurteilung der Mikrosatelliteninstabilität des EK dienen können.

Die vorangegangenen Studien rücken die Diagnostik der Mikrosatelliteninstabilität stark in den Vordergrund und erwecken den Eindruck als aussagekräftiger Parameter in der Überlebensdiagnostik des EK in Zukunft eine manifeste Rolle zu spielen. Andere Studien, wie McMeekin et al. (2016) stellen diesen Ansatz in Frage. Sie sprechen von einem schwachen prognostischen Indikator. Der Status der Reparaturproteine hat nachweislich keinen Effekt auf das Überleben.

Als Gemeinsamkeit der Studien rückt die PD-L1 Expression als Indikator für die Prognose als erweiterter Prognosefaktor in den Vordergrund. Zur Verbesserung der bereits existierenden Auswahlkriterien wird die Ergänzung um den PD-L1 Status empfohlen. Dies zeigen auch die Ergebnisse von Li et al. (2017).

Nicht zuletzt spiegelt sich die enorme Bedeutsamkeit der Erforschung von Checkpoint-Inhibitoren in der Medizin, wie PD-L1, insbesondere in der Verleihung des Nobelpreises im Jahr 2018 an James Allison und Tasuku Honjo für ihre Forschungsergebnisse an Checkpoint-Inhibitoren wider (Borsch, 2018).

5. Zusammenfassung

Die Untersuchung von Zellmarkern nimmt in vielen Bereichen der Medizin, insbesondere der Onkologie, eine stetig zunehmende Rolle ein. Die Optimierung von onkologischen Therapien steht dabei im Mittelpunkt des internationalen Interesses. Im Fokus stehen Malignome, deren Neuerkrankungs- und Sterberaten eine globale Problematik darstellen. In der Immunonkologie liegt, im Hinblick auf die Therapieoptimierung, ein Schwerpunkt in der Forschung an Biomarkern (Emons et al., 2019; Kaatsch et al., 2017; Kiechle und Schlag; 2017).

Zu den am häufigsten genutzten Biomarkern in der Immunonkologie gehört der Marker PD-L1 (Programmed Cell Death Ligand 1). Er zählt zur Gruppe der Immun-Checkpoints. Sein Einsatzspektrum hat sich in den vergangenen Jahren deutlich erweitert (Schildhaus, 2018). Besonders die Nobelpreisverleihung an James Allison und Tasuku Honjo für Ihre Forschungsergebnisse an Checkpoint-Inhibitoren im Jahr 2018, weist auf die enorme Wichtigkeit der Forschung an Biomarkern hin (Ärzteblatt, 2018).

In dieser Arbeit ist retrospektiv die Expressionsrate von PD-L1 am operativ entfernten Tumorgewebe von 87 Endometriumkarzinom-Patientinnen mittels Tissue-Microarrays ausgewertet worden. Alle Frauen sind zwischen 2002 und 2016 an der Frauenklinik der Universität Bonn diagnostiziert und therapiert worden. Der Altersdurchschnitt im Kollektiv der Patientinnen liegt bei 63 Jahren und der durchschnittliche BMI mit 30,5 im Bereich der Adipositas Grad I. Eine Minderheit der Patientinnen (15 % von 60) hat einen positiven Raucher-Status angegeben. In 81 % der Fälle ist mindestens einer der bekannten Risikofaktoren, bezugnehmend auf das Auftreten eines Endometriumkarzinoms (EK), vorhanden. Zu diesen gehören vor allem ein Diabetes Mellitus, eine Adipositas, ein Hypertonus oder ein bereits an anderer Stelle aufgetretenes Karzinom.

Ziel dieser Arbeit war es, herauszufinden, ob der Biomarker PD-L1 für das Gesamtüberleben der EK-Patientinnen als prognostischer Faktor genutzt werden kann. In der Prüfung des Markers zeigte sich, dass PD-L1 eine prognostische Aussagekraft beim EK hat. Frauen mit einem PD-L1 positiven EK sind mit einer kürzeren Überlebensdauer assoziiert, vergleichbare Ergebnisse zeigt die Studie am EK von Kucukgoz Gulec et al. (2019).

In der hier vorliegenden Studie findet sich einen Unterschied von 53 Monaten im Gesamt- und 50 Monaten im rezidiv-freien Überleben zugunsten der Patientinnen mit negativem PD-L1 Status. Für eine differenzierte Beurteilung der entnommenen Tumorpräparate sind weitere immunhistochemische Färbungen an den Präparaten zur Vergleichbarkeit durchgeführt worden. Zu diesen Färbungen zählen CD3, CD20, CD68, p16, Ki67, HER2/neu, Östrogen- und Progesteronrezeptor. Ebenso sind prognostische Faktoren, wie der histologische Subtyp, das Grading, die Stadieneinteilung nach den Klassifikationssystemen TMN und UICC, die Metastasierung, der Lymphknotenstatus und die Lymphozyten-Infiltration des Kollektivs untersucht worden. Im Vergleich dieser Faktoren zeigt sich, dass fest etablierte Prognosefaktoren, wie die TNM-Klassifikation oder die UICC-Stadien, im Hinblick auf die Therapiewahl beim EK starke Indikatoren darstellen. Zur objektiven Beurteilbarkeit des Prognosefaktors PD-L1 ist die Aussagekraft bezüglich des Gesamtüberlebens in einer weiterführenden statistischen Auswertung mittels Cox-Regression getestet worden. Es stellte sich heraus, dass PD-L1 im Vergleich zu etablierten Prognosefaktoren, wie dem histologischen Subtyp, dem Grading, den Klassifikationssystemen TNM und UICC oder dem LK-Status keinen neuen Informationsgehalt mit sich bringt. Somit sollte der PD-L1 Status nicht als alleinstehender prognostischer Parameter in der Diagnostik des EK genutzt werden.

Eine Erweiterung der existierenden Prognosefaktoren um den PD-L1 Status wird aufgrund der Aussagekraft auf das Überleben empfohlen. Zu einer übereinstimmenden Schlussfolgerung kommt die Studie am EK von Li et al. (2017).

In der Auswertung der drei Immunzell-Populationen (CD3, CD20, CD68) fällt im Vergleich zwischen intra- und peritumoralem Gewebe ein vermehrtes Aufkommen der Lymphozyten-Populationen peritumoral auf. In allen Populationen liegt eine Dominanz der PD-L1 Expression peritumoral vor. Durch eine Antikörpertherapie gegen PD-L1 kommt es zur Aktivierung der körpereigenen Immunzell-getriggerten Tumorzellzerstörung. Eine Erweiterung des Therapieregimes im Sinne einer Immunzelltherapie ist aufgrund der signifikanten Expression am Endometriumkarzinom durchaus denkbar. Weiterführende Studien zur PD-L1 Expression und Auswertung von Immunzell-Populationen am Ovar sowie an der Zervix sind aktuell ausstehend. Bei erfolgter Komplettierung der Daten der PD-L1 Expression am weiblichen Geschlechtstrakt sollten prospektive, randomisierte Studien zur Beurteilung des therapeutischen Nutzens eingeleitet werden.

Die signifikante PD-L1 Expression beim Endometriumkarzinom stellt einen vielversprechenden Therapieansatz in dessen Behandlung dar.

Ein enormer Zuwachs in der Therapiebreite für medikamentöse Ansätze mit Checkpoint-Inhibitoren ist seit der Zulassung von Pembrolizumab im Jahr 2014, einem PD-1 Inhibitor für die Behandlung von Melanomen, zu verzeichnen. Die neu zugelassenen, medikamentösen Ansätze für diverse Tumorentitäten sind lange nicht ausgereizt. Mit der immerzu wachsenden Zahl an PD-1 und PD-L1 Inhibitoren rückt die Optimierung dieser Therapieansätze zunehmend in den Fokus. Dabei nimmt insbesondere die Rolle der prädiktiven Biomarker, aber auch die Therapiedauer und der Aufbau der Studie eine wichtige Stellung ein (Gong et al., 2018).

Der Rückblick aus der Historie der PD-L1 Therapie aus Gong et al. (2018) zeigt deutlich, dass die Anzahl der Studien mit medikamentösen Ansätzen an Checkpoint-Inhibitoren weiter steigt. Die Liste der therapierbaren Tumorentitäten wächst stetig. PD-L1 stellt durch seine signifikante Expression im Endometriumkarzinom einen möglichen Therapieansatz in Zukunft dar.

6. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Behandlungsalgorithmus des Endometriumkarzinoms (Brambs et al., 2017)	18
Abb. 2: PD-L1 Anfärbegrade	29
Abb. 3: Ki-67 Expression	30
Abb. 4: Anfärbung der Immunzellen	31
Abb. 5: Übersicht über die Anzahl der Patientinnen pro Jahr	34
Abb. 6: Verteilung der Spannweite des Alters	35
Abb. 7: Verteilung des Body-Mass-Index	36
Abb. 8: Gruppierung aller Vorerkrankungen anhand der Anzahl der enthaltenen Risikofaktoren	37
Abb. 9: Angabe des Nikotin-Konsums	38
Abb. 10: Häufigkeitsverteilung der verschiedenen histopathologischen Typen des Kollektivs	40
Abb. 11: Kaplan-Meier-Kurve des Gesamtüberlebens für den Prognosefaktor histologischer Subtyp	41
Abb. 12: Kaplan-Meier-Kurve des rezidiv-freien Überlebens für den Prognosefaktor histologischer Subtyp	41
Abb. 13: Häufigkeitsverteilung der Grading-Grade	42
Abb. 14: Kaplan-Meier-Kurve des Gesamtüberlebens für den Prognosefaktor Grading	43
Abb. 15: Kaplan-Meier-Kurve des rezidiv-freien Überlebens für den Prognosefaktor Grading	44
Abb. 16: Häufigkeitsverteilung der TNM-Stadien	46
Abb. 17: Häufigkeitsverteilung der UICC-Stadien	46
Abb. 18: Kaplan-Meier-Kurve des Gesamtüberlebens für den Prognosefaktor TNM- Klassifikation	47
Abb. 19: Kaplan-Meier-Kurve des Gesamtüberlebens für den Prognosefaktor UICC-Klassifikation	47
Abb. 20: Kaplan-Meier-Kurve des rezidiv-freien Überlebens für den Prognosefaktor TMN-Klassifikation	48

Abb. 21: Kaplan-Meier-Kurve des rezidiv-freien Überlebens für den Prognosefaktor UICC-Klassifikation	48
Abb. 22: Kaplan-Meier-Kurve des Gesamtüberleben für den Prognosefaktor Metastasierung	50
Abb. 23: Kaplan-Meier-Kurve des rezidiv-freien Überlebens für den Prognosefaktor Metastasierung	50
Abb. 24: Kaplan-Meier-Kurve des Gesamtüberlebens für den Prognosefaktor Lymphknotenstatus	52
Abb. 25: Kaplan-Meier-Kurve des rezidiv-freien Überlebens für den Prognosefaktor Lymphknotenstatus	52
Abb. 26: PD-L1 Expression von Frauen mit positivem und negativem LK-Status im Vergleich	53
Abb. 27: Kaplan-Meier-Kurve des Gesamtüberlebens anhand des PD-L1 Status	55
Abb. 28: Kaplan-Meier-Kurve des rezidiv-freien Überlebens anhand des PD-L1 Status	55
Abb. 29: Vergleich der durchschnittlichen CD3 Zellzahl im intra- und peritumoralen Gewebe mit Differenzierung des PD-L1 Status der EK-Patientinnen	59
Abb. 30: Vergleich der durchschnittlichen CD20 Zellzahl im intra- und peritumoralen Gewebe mit Differenzierung des PD-L1 Status der EK-Patientinnen	61
Abb. 31: Vergleich der durchschnittlichen CD68 Zellzahl im intra- und peritumoralen Gewebe mit Differenzierung des PD-L1 Status der EK-Patientinnen	63

7. Tabellenverzeichnis

Tab. 1: TNM/FIGO-Klassifikation des Endometriumkarzinoms (Horn et al., 2011)	15
Tab. 2: Aufbau einer TMA Tabelle	24
Tab. 3: Übersicht über die immunhistochemischen Auswertungen	26
Tab. 4: Übersicht über die verwendeten Antikörper-Färbungen	27
Tab. 5: CD3 Zellen im intra- und peritumoralen Anteil beim EK	58
Tab. 6: CD20 Zellen im intra- und peritumoralen Anteil beim EK	60
Tab. 7: CD68 Zellen im intra- und peritumoralen Anteil beim EK	62

8. Literaturverzeichnis

Allen NE, Tsilidis KK, Key TJ, Dossus L, Kaaks R, Lund E, Bakken K, Gavrilyuk O, Overvad K, Tjønneland A, Olsen A, Fournier A, Fabre A, Clavel-Chapelon F, Chabbert-Buffet N, Sacerdote C, Krogh V, Bendinelli B, Tumino R, Panico S, Bergmann M, Schuetze, Van Duijnhoven FJB, Bueno-de-Mesquita HB, Onland-Moret NC, Van Gils CH, Amiano P, Barricarte A, Chirlaque MD, Molina-Montes ME, Redondo ML, Duell EJ, Khaw KT, Wareham N, Rinaldi S, Fedirko V, Mouw T, Michaud DS, Riboli E. Menopausal Hormone Therapy and Risk of Endometrial Carcinoma Among Postmenopausal Women in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition; American Journal of Epidemiology; Oxford University Press; 2010; Volume 172; 1394-1403

Amant F, Moerman P, Neven P, Timmerman D, Van Limbergen E, Vergote I. Endometrial cancer; the Lancet; Elsevier; 2005; Volume 366; p. 491-505

Azuaje F. Bioinformatics and Biomarker Discovery: “omic” data analysis for personalized medicine; Wiley-Blackwell; 2010; Chapter 1; pp. 1-14

Beral V, Bull D, Reeves G. Endometrial cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study; Lancet; Elsevier; 2005, 365; p. 1543-1551

Borsch J. DAZ.online, 01.10.2018: Checkpoint-Inhibitoren: Dafür gab es den Medizin-Nobelpreis. <https://www.deutsche-apotheker-zeitung.de/news/artikel/2018/10/01/checkpoint-inhibitoren-dafuer-gab-es-den-medizin-nobelpreis#:~:text=Der%20Nobelpreis%20f%C3%BCr%20Medizin%20geht,in%20die%20Krebstherapie%20gefunden%20haben.> (25.07.2019)

Brambs C, Kiechle M. Behandlungsalgorithmen Endometriumkarzinom; Der Onkologe; Springer; 2017; Band 23; S. 5-6

Burke WM, Orr J, Leitao M, Salom E, Gehrig P, Olawaiye AB, Brewer M, Boruta D, Viel-
lella J, Herzog T, Shahin FA. Endometrial cancer: A review and current management
strategies: Part I; *Gynecologic Oncology*; Elsevier; 2014; Volume 134; p. 385-392

Chlebowski RT, Anderson GL, SartoGE, Haque R, Runowicz CD, Aragaki AK, Thomson
CA, Howard BV, Wactawski-Wende J, Chen C, Rohan TE, Simon MS, Reed SD, Man-
son JE. Continuous Combined Estrogen Plus Progestin and Endometrial Cancer: The
Women's Health Initiative Randomized Trial; *Journal of the National Cancer Institute*;
Oxford University Press; 2015; Volume 108; No. 3; djv350

Colombo N, Preti E, Landoni F, Carinelli S, Colombo A, Marini C, Sessa C. Endometrial
cancer: ESMO Clinical Practise Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up; *An-
nals of Oncology*; Elsevier; 2013; Volume 24; Supplement 6; vi33-vi38

Committee of Practise Bulletin-Gynecology, Society of Gynecologic Oncology, Burke
WM, Gold MA. Practise Bulletin, Clinical Management Guidelines for Obstetrician-
Gynecologists; 2015; Number 149, p.1006-1026

Cote ML, Alhajj T, Ruterbusch JJ, Bernstein L, Brinton LA, Blot WJ, Chen C, Gass M,
Gaussoin S, Henderson B, Lee E, Horn-Ross PL, Kolonel LN, Kaunitz A, Liang X, Ni-
cholson WK, Park AB, Petruzella S, Rebbeck TR, Setiawan VW, Signorello LB, Simon
MS, Weiss NS, Wentzensen N, Yang HP, Zeleniuch-Jacquotte A, Olson SH. Risk factors
for endometrial cancer in black and white women: A pooled analysis from the Epidemiol-
ogy of Endometrial Cancer Consortium (E2C2); *Cancer causes Control*; Springer; 2015;
Volume 26; Issue 2; p. 287-296

Dossus L, Allen N, Kaaks R, Bakken K, Lund E, Tjønneland A, Olsen A, Overvad K, Clavel-Chapelon F, Forunier A, Chabbert-Buffet N, Boeing H, Schütze M, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Lagiou P, Palli D, Krogh V, Tumino R, Vineis P, Mattiello A, Bueno-de-Mesquita H, Onland-Moret NC, Peeters PHM, Dumeaux V, Redondo ML, Duell E, Sanchez-Cantalejo E, Arriola L, Chirlaque MD, Ardanaz E, Manjer J, Borgquist S, Lukanova A, Lundin E, Khaw KT, Wareham N, Key T, Chajes V, Rinaldi S, Slimani N, Mouw T, Gallo V, Riboli E. Reproductive risk factors and endometrial cancer: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition; International Journal of Cancer; UICC, 2010; Volume 127; pages 442-451

Eichbaum MHR. Nachsorge des Endometriumkarzinoms; Der Onkologe; Springer; 2017; Band 23; S. 37-41

Emons G, Steiner E, Vordermark D, Leitliniengruppe. Wichtigste Ergebnisse der S3-Leitlinie „Diagnostik, Therapie und Nachsorge der Patientinnen mit Endometriumkarzinom; Best practice onkologie; Springer; 2019; Volume 14; Issue 4; pp. 114-120

Ettinger B, Kenemans P, Johnson SR, Mol-Arts M, Van Os S, Seifert W, Verweij PJM, Cummings SR. Endometrial Effects on Tibolone in Elderly Osteoporotic Women; Obstetrics and Gynecology; American College of Obstetricians and Gynecologists; 2008; Volume 112; No. 3; p. 653-659

Felix AS, Gaudet MM, La Vecchia C, Nagle CM, Shu XO, Weiderpass E, Adami HO, Beresford S, Bernstein L, Chen C, Cook LS, Immaculata de Vivo, Doherty JA, Friedenreich CM, Gapstur SM, Hill D, Horn-Ross P, Lacey JV, Levi F, Liang X, Lu L, Magliocco A, McCann SE, Negri E, Olson SH, Palmer JR, Patel AV, Petruzella S, Prescott J, Risch HA, Rosenberg L, Sherman ME, Sprudle AB, Webb PM, Wise LA, Xiang YB, Xu W, Yang HP, Yu H, Zeleniuch-Jaquotte A, Brinton LA. Intrauterine devices and endometrial cancer risk: a pooled analysis of the Epidemiology of Endometrial Cancer Consortium; International Journal of Cancer; 2015; Vol. 136, Issue 5, p. E410-E422

Fliesser M. TMA oder MTA – eine Revolution in der Histologie und Pathologie; Wissenschaft & Praxis; Biomed Austria; 2006; Heft 1; S. 10-13

Fung-Kee-Fung M, Dodge J, Elit L, Lukka H, Chambers A, Oliver T. Follow-up after primary therapy for endometrial cancer: A systematic review; *Gynecologic Oncology*, Elsevier; 2006; Volume 101; pp. 520-529

Gong J., Chehraz-Raffle A., Reddi S., Salgia R. Development of PD-1 and PD-L1 inhibitors as a form of cancer immunotherapy: a comprehensive review of registration trials and future considerations, *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 2018, 6:8, p.1-18

Hamanishi J, Madai M, Matsumura N, Kaoru A, Baba T, Koshih I. PD-1/PD-L1 blockade in cancer treatment: perspectives and issues, *International Journal of Clinical Oncology*, Springer, 2016, vol. 21, p. 462-473

Haoula Z, Salman M, Atiomo W. Evaluating the association between endometrial cancer and polycystic ovary syndrome; *Human Reproduction*; Oxford University Press; 2012; Vol. 27; No. 5; p. 1327-1331

Horn LC, Schierle K, Schmidt D, Ulrich U, Liebmann A, Wittekind C. Aktuelle TNM/FIGO-Stadieneinteilung für das Zervix- und Endometriumkarzinom sowie maligne Müller-Mischtumore; *Pathologe*; Springer; 2011; 32; S. 239-243

Kaatsch P, Spix C, Katalinic A, Hentschel S, Luttmann S, Stegmaier C, Waldeyer-Sauerland M, Waldmann A, Caspritz S, Christ M, Ernst A, Folkerts J, Hansmann J, Klein S, Kranzhöfer K, Kunz B, Manegold K, Penzkofer A, Treml K, Weg-Remers S, Wittenberg K, Barnes B, Bertz J, Buttman-Schweiger N, Dahm S, Fiebig J, Haberland J, Kraywinkel K, Wienecke A, Wolf U. Krebs in Deutschland für 2013/2014; Robert-Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg); 2017; S. 84-87

Kiechle M, Schlag PM. Endometriumkarzinom; *der Onkologe*; Springer; 2017; Band 23; S. 2-4

Koh WJ, Abu-Rustuum NR, Bean S, Bradley K, Campos SM, Cho KR, Chon HS, Chu C, Cohn D, Crispens MA, Damast S, Dorigo O, Eifel PJ, Fisher CM, Frederick P, Gaffney DK, George S, Han E, Higgins S, Huh WK, LurRAIN JR, Mariani A, Mutch D, Nagel C, Nekhlyudov L, Fader AN, Remmenga SW, Reynolds K, Tilmanns T, Ueda S, Wyse E, Yashar CM, McMillian NR, Scavone JL. Uterine Neoplasms, Version 1.2018; National Comprehensive Cancer Network; 2018; Volume 16; Issue 2; pp. 170-198

Kucukgoz Gulec U, Kilic Bagir E, Paydas S, Guzel AB, Gumurdulu D, Vardar MA. Programmed death-1 (PD-1) and programmed death-ligand 1 (PD-L1) expression in type 2 endometrial cancer; Archives of Gynecology and Obstetrics; Springer; 2019; Volume 300; Issue 2; pp 377-382

Lax SF. Molekulare Pathogenese des Endometriumkarzinoms auf Basis eines dualistischen Modells; Zentralblatt für Gynäkologie; Thieme; 2002; 124(1); S. 10-16

Lax SF. Neues in der WHO-Klassifikation 2014 der Tumoren des Corpus uteri; Pathologie; Springer; 2016; 37; S. 500-511

Li Z, Joehlin-Price AS, Rhoades J, Ayoola-Adeola M, Miller K, Parwani AV, Backes FJ, Felix AS, Suarez AA. Programmed Death Ligand 1 Expression Among 700 Consecutive Endometrial Cancers: Strong Association With Mismatch Repair Protein Deficiency, International Journal of Gynecological Cancer, 2017, Volume 00, Number 00, p.59-68

Manchanda R, Saridogan E, Abdelraheim A, Johnson M, Rosenthal AN, Benjamin E, Brunell C, Side L, Gessler S, Jacobs I, Menon U. Annual outpatient hysteroscopy and endometrial sampling (OHES) in HNPCC/Lynch syndrome (LS); Archives of Gynecology and Obstetrics; Springer; 2012; Volume 286; Issue 6; pp. 1555-1562

McMeekin DS, Trichtler DL, Cohn DE, Mutch DG, Lankes HA, Geller MA, Powell MA, Backes FL, Landrum LM, Zaino R, Broaddus RD, Ramirez N, Gao F, Ali S, Darcy KM, Pearl ML, DiSilvestro PA, Lele SB, Goodfellow PJ. Clinicopathologic Significance of Mismatch Repair Defects in Endometrial Cancer: An NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group Study, *Journal of Clinical Oncology*, American Society of Clinical Oncology, 2016, Volume 34, Number 25, p.3062-3068

Moch H, Kononen J, Kallioniemi OP, Sauter G. Tissue Microarrays: What Will They Bring to Molecular and Anatomic Pathology; *Advances in Anatomic Pathology*; Ovid; 2001; Vol. 8; No. 1; p. 14-20

Morice P, Leary A, Creutzberg C, Abu-Rustum N, Darai E. Endometrial cancer; *Lancet*; Elsevier; 2016; Volume 387; p. 1094-1108

Ono R, Nakayama K, Nakamura K, Yamashita H, Ishibashi T, Ishikawa M, Minamoto T, Razia S, Ishikawa N, Otsuki Y, Nakayama S, Onuma H, Kurioka H, Kyo S. Dedifferentiated Endometrial Carcinoma Could be A Target for Immune Checkpoint Inhibitors (Anti PD-1/PD-L1 Antibodies), *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, Volume 20, Article Number 3744

Pakish JB, Zhang Q, Chen Z, Liang H, Chisholm GB, Yuan Y, Mok SC, Broaddus RR, Lu KH, Yates MS. Immune Microenvironment in Microsatellite-Unstable Endometrial Cancers: Hereditary or Sporadic Origin Matters, *Clinical Cancer Research*, 2017, Volume 23, Issue 15, p. 4473-4481

Pfarr N, Specht K, Weichert W. Bestimmung molekularer Biomarker in der Behandlung solider Tumoren; *Forum*; Springer; 2017; Band 32 (3); S. 222-229

Prat J. FIGO staging for uterine sarcomas; *International Journal of Gynecology and Obstetrics*; Elsevier; 2009; Volume 104; p. 177-178

Razavi P, Pike MC, Horn-Ross PL, Templeman C, Bernstein L, Ursin G. Long-term Postmenopausal Hormone Therapy and Endometrial Cancer; Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention; American Association for Cancer Research; 2010; p. 475-483

Salani R, Nagel CI, Drennen E, Bristow RE. Recurrence patterns and surveillance for patients with early stage endometrial cancer; Gynecologic Oncology; Elsevier; 2011a; Volume 123; pp. 205-207

Salani R, Backes FJ, Fung Kee Fung M, Holschneider CH, Parker LP, Bristow RE, Goff BA. Posttreatment surveillance and diagnosis of recurrence in women with gynecologic malignancies: Society of Gynecologic Oncologists recommendations; Oncology; American Journal of Obstetrics & Gynecology; 2011b; Volume 204; Issue 6; pp. 466-478

Sartori E, Pasinetti B, Carrara L, Gambino A, Odicino F, Pecorelli S. Pattern of failure and value of follow-up procedures in endometrial and cervical cancer patients; Gynecologic Oncology; Elsevier; 2007; Volume 107; pp. S241-S247

Schildhaus HU. Der prädiktive Wert der PD-L1-Diagnostik; der Pathologe; Springer; 2018; Band 39; S, 498-519

Schonfeld SJ, Hartge P, Pfeiffer RM, Freedman M, Greenlee RT, Linet MS, Park Y, Schairer C, Visvanathan K, Lacey JV. An Aggregated Analysis of Hormonal Factors and Endometrial Cancer Risk by Parity; Cancer; American Cancer Society; 2013; Vol. 119, Issue 7; p. 1393-1401

Setiawan VW, Pike MC, Karageorgie S, Deming SL, Anderson K, Bernstein L, Brinton LA, Cerhan JR, Cozen W, Chen C, Doherty J, Freudenheim JL, Goodman MT, Hankinson SE, Lacey JV, Liang X, Lissowska J, Lu L, Lurie G, Mack T, Matsuno RK, McCann S, Moysich KB, Olson SH, Rastogi R, Rebbeck TR, Risch H, Robien K, Schairer C, Shu XO, Spurdle AB, Strom BL, Thompson PJ, Ursin G, Webb PM, Weiss NS, Wentzensen N, Xiang YB, Yang HB, Yu H, Horn-Ross PL, Immaculata De Vivo, the Australian National Endometrial Cancer Study Group. Age at Last Birth in Relation to Risk of Endometrial Cancer: Pooled Analysis in the Epidemiology of Endometrial Cancer Consortium; American Journal of Epidemiology; Oxford University Press; 2012; Volume 176; No. 4; p. 269-278

Silverberg SG, Mutter GL, Kurman RJ, Kubik-Huch RA, Nogales F, Tavassoli FA. Epithelial tumours and related lesions; Tumours of the Breast and Female Genital Organs; World Health Organization Classification of Tumours; 2003; pp. 221-232

Soini T, Hurskainen R, Grénman S, Mäenpää J, Paavonen J, Pukkala E. Cancer Risk in Women Using the Levonorgestrel-Releasing Intrauterine System in Finland; Obstetrics and Gynecology; American College of Obstetricians and Gynecologists; 2014; Vol. 124; No.2; p. 292-299

Soslow RA, Tornos C, Park KJ, Malpica A, Matias-Guiu X, Oliva E, Parkash V, Carlson J, McCluggage WG, Gilks CB. Endometrial Carcinoma Diagnosis: Use of FIGO Grading and Genomic Subcategories in Clinical Practise: Recommendations of the International Society of Gynecological Pathologists, International Journal of Gynecological Pathology, Wolters Kluwer, 2019, Vol. 38, Issue 1, p. S64-S74

Steiner E, Eienkel J, Schmidt D, Horn LC. Prädiktive und prognostische Marker beim Endometriumkarzinom; der Onkologe; Springer; 2012; Band 18; S. 853-865

Steiner E. Diagnostik und Stadieneinteilung des Endometriumkarzinoms; Der Onkologe; Springer; 2017; Band 23; S. 23-28

Timmermans A, Opmeer BC, Khan KS, Bachmann LM, Epstein E, Clark J, Gupta JK, Bakour SH, Van den Bosch T, Van Doorn H, Cameron ST, Giusa MG, Dessole S, Paul F, Dijkhuizen HLJ, Ter Riet G, Mol BWJ. Endometrial Thickness Measurement for Detecting Endometrial Cancer in Women with Postmenopausal Bleeding; *Obstetrics and Gynecology*; American College of Obstetricians and Gynecologists; 2010; Volume 116; No. 1; p. 160-167

Vasen HFA, Blanco I, Aktan-Collan K, Gopie JP, Alonso A, Aretz S, Bernstein I, Bertario L, Burn J, Capella G, Colas C, Engel C, Frayling IM, Genuardi M, Heinimann K, Hes FJ, Hodgson SV, Karagiannis JA, Laloo F, Lindblom A, Mecklin JP, Møller P, Myrhoj T, Nagengast FM, Parc Y, Ponz de Leon M, Renkonen-Sinisalo L, Sampson JR, Stormorken A, Sijmons RH, Tejpar S, Thomas HJW, Rahner N, Wijnen JT, Järvinen HJ, Möslein G. Revised guidelines for the clinical management of Lynch syndrome (HNPCC): recommendations by a group of European experts; *Gut*; BMJ; 2013; Volume 62; No. 6; p 812-823

Ward KK, Roncancio AM, Shah NR, Davis MA, Saenz CC, McHale MT, Plaxe SC. The risk of uterine malignancy is linearly associated with body mass index in a cohort of US women; *American Journal of Obstetrics and Gynecology*; Elsevier; 2013; Volume 206; Issue 6; p. 579.e1-579.e5

Win AK, Reece JC, Ryan S. Family History and Risk of Endometrial Cancer; *Obstetrics and Gynecology*; American College of Obstetricians and Gynecologists; 2015; Vol. 125; No. 1; p. 89-98

Zhang ZH, Su PY, Hao JH, Sun YH. The Role of Preexisting Diabetes Mellitus on Incidence and Mortality of Endometrial Cancer: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies; *International journal of gynecological cancer*; International Gynecological Cancer Society; 2013; Volume 23; Issue 2; p. 294-303

Ziegler A, Lange S, Bender R. Überlebenszeitanalyse: Die Cox-Regression, *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, Thieme Verlag, 2004, Volume 129, Ausgabe S3, Artikel 16, S.T1-T3

9. Danksagung

Zuallererst möchte ich mich bei Allen bedanken, die mich während meiner Zeit und beim Verfassen meiner Dissertationsarbeit unterstützt und gefördert haben.

Als nächstes möchte ich meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Dr. h.c. Alexander Mustea für die Übernahme meines Doktorandenvertrags und Betreuung danken. Für die Funktion des Zweitgutachters gilt mein Dank Prof. Dr. Ingo G. H. Schmidt-Wolf. Ebenso möchte ich meinem Zweitprüfer Dr. Hemmen Sabir sowie der Prüfungsbeisitzenden Dr. Silvia Porella danken.

Für die Begleitung und Betreuung meiner Arbeit möchte ich Dr. med. Thomas Hecking und Thore Thiesler danken. Sie haben die ein oder andere zusätzliche Nachtschicht dafür eingelegt. Telefonisch stand mir insbesondere Herr Thiesler auch durch die Distanz nach Aachen mit Rat und Tat zur Seite.

Weiterhin möchte ich mich bei allen bedanken, deren Arbeit mir unbekannt geblieben ist bzw. von deren Arbeit ich profitiert habe. Besonders bedanken möchte ich mich vor allem bei allen Mitarbeiter/-innen aus dem Institut für Pathologie, die meine Färbungen betreut und durchgeführt haben.

Ein sehr großer Dank geht insbesondere an meinen Freund Dominik, der sehr viele Abende und Wochenenden investiert hat, um Korrektur zu lesen. Insbesondere in Phasen, wo es gerade nicht wie am Schnürchen lief, konnte ich mich auf seine Unterstützung verlassen. Nicht zu vergessen sind meine Kommilitonen/-innen, die mich motiviert und unterstützt haben bei Fragen aller Art.

Zuletzt möchte ich meiner Familie danken, die mich auf meinem Weg zum Dokortitel unterstützt haben. Ob es aufmunternde Telefonate oder das Korrektur lesen waren, es wurden immer die richtigen Worte dafür gefunden. Vielen Dank für eure Unterstützung!