

Aus der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktorin: Univ.-Prof. Dr. Tanja Fehm

Expression von Stammzellmarkern in Endometriose Läsionen

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Anna Katharina Henn

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachterin: PD Dr. med. Ines Beyer

Zweitgutachterin: PD Dr. med. Andrea Kündgen

AUFLISTUNG EIGENER PUBLIKATIONEN

Posterpräsentation bei der 214. Tagung

der Niederrheinisch-Westfälischen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe e.V.

vom 24.05.-25.05.2019

ZUSAMMENFASSUNG

Endometriose ist eine chronische benigne Erkrankung, bei der Endometrium ähnliches Gewebe außerhalb seiner physiologischen Lokalisation - der Gebärmutter Schleimhaut - auftritt. Die Klinik präsentiert sich sehr variabel, die Diagnosestellung ist herausfordernd. Verfügbare Therapien sind invasiv, nebenwirkungsreich und haben negative Auswirkungen auf die Konzeption. Zudem sind Rezidive häufig. Die Ätiologie der Endometriose wird kontrovers diskutiert und ist bislang nicht gänzlich verstanden.

Ziel dieser Arbeit ist es, einen Beitrag zur Aufklärung der Ätiologie von Endometriose zu leisten. Insbesondere soll die Transplantationstheorie überprüft werden. Da diese das Vorkommen von Stammzellen in den Endometrioseläsionen postuliert, wurde in dieser Arbeit nach Zellen mit Stammzellcharakter in Endometrioseherden gesucht. Diese wurden durch die charakteristische Plastizität ihrer Oberflächenmoleküle (Antigene) mittels Antikörper in immunohistochemischen Färbungen auffindig gemacht. Als Antikörper wurden Musashi 1, KLF4, Oct-3/4, NOTCH1 und Nanog gewählt. Im Rahmen dieser wissenschaftlichen Studie wurden insgesamt 63 Paraffingewebeproben von operativ entfernten Endometriose Läsionen untersucht. Die Analyse erfolgte in Abhängigkeit der Lokalisation der Herde. So wurde zwischen tief infiltrierendem und oberflächlichem Befall differenziert. Um die Ausprägung der Färbung besser vergleichen zu können, wurde eine semiquantitative Auswertung mittels Score verwendet. Die Ergebnisse der Bewertung durch den Score wurden dann statistisch ausgewertet.

Alle ausgewählten Antikörper konnten in den Endometrioseläsionen nachgewiesen werden. In dieser Arbeit finden sich repräsentative Fotos der jeweiligen Färbungen. Es konnte zudem die Hypothese, dass sich die Ausprägung der Zellen mit Stammzellcharakter abhängig von der Lokalisation der Läsion (oberflächlicher versus tief infiltrierender Befall) unterscheidet, bestätigt werden. Darüber hinaus lässt sich feststellen, dass die Ausprägung der Zellen mit Stammzellcharakter in tief infiltrierenden Läsionen größer ist, als bei solchen, die als oberflächliche Herde gelten.

Demnach ist festzuhalten, dass Endometriose Läsionen Zellen mit Stammzeleigenschaften aufweisen. Diese spielen vermutlich eine Rolle bei der Krankheitsentstehung. Daneben gibt es viele andere plausible Theorien, wie es zum Auftreten der Erkrankung kommt, sodass möglicherweise ein komplexes Wechselspiel aus mechanischen, endokrinen, genetischen und immunologischen Faktoren die Pathogenese erklärt. Die Ausprägungsformen der Erkrankung sind sehr variabel und je nach Lokalisation zeigen sich zudem unterschiedliche Eigenschaften, wie z.B. die heterogene Expression von Stammzellen je nach Infiltrationstiefe. Daher wäre es auch denkbar, dass den verschiedenen Manifestationen der Endometriose unterschiedliche pathogene Wege zu Grunde liegen. Zusammenfassend wäre es sinnvoll, nicht nach einer Ätiopathogenese zu suchen, die das gesamte Spektrum der Endometriose erklärt, sondern in der Forschung offen zu bleiben für verschiedene koexistierende Ätiologien.

ABSTRACT

Endometriosis is a chronic benign condition in which endometrium-like tissue occurs outside of its physiological location - the lining of the uterus. The clinical picture is very variable, the diagnosis is challenging. Available therapies are invasive, have many side effects and have a negative impact on conception. In addition, recurrences are common. The etiology of endometriosis is controversial and not fully understood.

The aim of this work is to contribute to the elucidation of the etiology of endometriosis. In particular, the transplantation theory is to be examined. Since this postulates the occurrence of stem cells in the endometriotic lesions, this work looked for cells with stem cell character in endometriotic foci. These were identified by the characteristic plasticity of their surface molecules (antigens) using antibodies in immunohistochemical staining. Musashi 1, KLF4, Oct-3/4, NOTCH1 and Nanog were chosen as antibodies. A total of 63 paraffin tissue samples from surgically removed endometriosis lesions were examined as part of this scientific study. The analysis was carried out depending on the localization of the foci. A distinction was made between deep infiltrating and superficial infestation. In order to be able to compare the coloration, a semi-quantitative evaluation by means of a score was used. The results of the evaluation by the score were then statistically evaluated.

All selected antibodies could be detected in the endometriotic lesions. This work contains representative photos of the respective colorings. In addition, the hypothesis that the expression of the cells with stem cell character differs depending on the localization of the lesion (superficial versus deep infiltrating infestation) could be confirmed. Moreover, it can be stated that the expression of cells with a stem cell character is greater in deeply infiltrating lesions than in those that are considered to be superficial foci.

Accordingly, it can be stated that endometriosis lesions contain cells with stem cell character. These probably play a role in the development of the disease. In addition, there are many other plausible theories as to how the disease occurs, so that a complex interplay of mechanical, endocrine, genetic and immunological factors may explain the pathogenesis. The manifestations of the disease are very variable and, depending on the localization, different properties are also evident, such as the heterogeneous expression of stem cells depending on the depth of infiltration. It is therefore also conceivable that the various manifestations of endometriosis are based on different pathogenic pathways.

In summary, it would make sense not to look for one etiopathogenesis that explains the entire spectrum of endometriosis, but to remain open in research to various coexisting etiologies.

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AV	Abhängige Variable	H0	Nullhypothese
AK	Antikörper	H1	Alternativhypothese
Aqua dest.	Aqua destillata	HE	Hämalaun-Eosin
ASRM	<i>American Society of Reproductive Medicine</i>	ICD	<i>International Classification of Diseases</i>
BRCA	<i>Breast Cancer</i>	ICSI	Intrazytoplasmatische Spermieninjektion
bspw.	beispielsweise	IgG	Immunglobulin
bzw.	beziehungsweise	IHC	Immunhistochemie
ca.	circa	IPS	<i>induced Pluripotent Stem Cells</i>
CRISPR	<i>Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats</i>	IQR	Interquartilsabstand
d.h.	das heißt	IVF	In-Vitro-Fertilisation
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>	KOK	kombiniertes orales Kontrazeptivum
EFI	<i>Endometriosis Fertility Index</i>	LH	luteinisierendes Hormon
ENZIAN	deutschsprachige Klassifikation der TIE	LSAB	<i>Labelled Strept Avidin Biotin</i>
ER	Estrogenrezeptor	Mdn	Median
ESC	<i>Embryonic Stem Cell</i>	min	Minute
FGF	<i>Fibroblast Growth Factor</i>	ml	Milliliter
FSH	Follikelstimulierendes Hormon	mm	Millimeter
g	Gramm	MRT	Magnetresonanztomographie
ggf.	gegebenenfalls	NSAR	nichtsteroidales Antirheumatikum
GnRH	<i>Gonadotropin-Releasing-Hormone</i>	OP	Operation
		PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i>

PDGF	<i>Platelet Derived Growth Factor</i>
pH	Potentia Hydrogenii
PR	Progesteronrezeptor
PRM	Progesteron-Rezeptor-Modulator
R2	Effektstärkemaß
RT	Raumtemperatur
SCNT	<i>Somatic Cell Nuclear Transfer</i>
sek	Sekunde
sog.	so genannt
TIE	tief-infiltrierende Endometriose

TRIS	Tris(hydroxymethyl)amino methan
TBS	<i>Tris Buffered Saline</i>
UAW	unerwünschte Arzneimittel Wirkung
UV	unabhängige Variable
V.a.	Verdacht auf
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
vs.	versus
z.B.	zum Beispiel
µl	Mikroliter

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG.....	1
1.1	Endometriose	1
1.1.1	Definition.....	1
1.1.2	Epidemiologie.....	1
1.1.3	Klassifikation.....	2
1.1.4	Symptomatik/Klinik.....	3
1.1.5	Diagnostik.....	4
1.1.6	Histopathologie	5
1.1.7	Therapie.....	6
1.1.8	Prognose	9
1.1.9	Ätiologie.....	9
1.2	Stammzellen.....	12
1.2.1	Was kennzeichnet Stammzellen.....	12
1.2.2	Welche Arten von Stammzellen gibt es.....	12
1.2.3	<i>In Vitro</i> Stammzellen.....	13
1.2.4	Bezug zu Endometriose.....	13
1.2.5	Stammzellregulation	14
1.2.6	Stammzellmarker.....	14
1.3	Ziel der Arbeit	16
2	MATERIAL UND METHODEN.....	17
2.1	Material.....	17
2.1.1	Endometriose Präparate.....	17
2.1.2	Pathologiebefunde Endometriose Präparate.....	17
2.1.3	Antikörper	18
2.2	Methoden	19
2.2.1	Anfertigung Objektträger	19
2.2.2	Hämalaun-Eosin-Färbung.....	19
2.2.3	Immunhistochemie nach LSAB	21
2.2.4	Auswertung mittels Score.....	26

3	ERGEBNISSE	28
3.1	Repräsentative Fotos der Färbungen	28
3.2	Ergebnisse des IRS Scores	31
3.3	Statistische Auswertung des IRS Scores	32
3.3.1	Versuchsdesign	32
3.3.2	Skalenniveau	32
3.3.3	Prüfung der Normalverteilungsannahme: Kolmogorov-Smirnov-Test* und Shapiro-Wilks-Test	33
3.3.4	Nullhypothese H ₀	33
3.3.5	Statistische Zusammenhangsmaße: Spearman-Rangkorrelation	33
3.3.6	Statistische Zusammenhangsmaße: Chi-Quadrat-Test.....	34
3.3.7	Mittelwertvergleiche: Mann-Whitney-U-Test.....	34
3.3.8	Einfaktorielle Varianzanalysen: Kruskal Wallis Test	35
3.3.9	Paarvergleiche.....	35
4	DISKUSSION.....	36
4.1	Bewertung des Materials.....	36
4.2	Kritische Betrachtung der Methode.....	37
4.3	Betrachtung der Ergebnisse.....	39
4.4	Überprüfung der Theorien und Schlussfolgerung.....	41
4.5	Ausblick.....	51
5	LITERATUR- UND QUELLENVERZEICHNIS	53
6	ANHANG	64
6.1	Auswertung der Daten mit SPSS.....	64
6.2	Pathologiebefunde Präparate.....	93
6.3	Pathologiebefunde Positivkontrollen.....	101
6.5	Material- und Geräteliste.....	103

1 EINLEITUNG

1.1 Endometriose

1.1.1 Definition

Endometriose ist eine chronische benigne Erkrankung, bei der Endometrium ähnliches Gewebe außerhalb seiner physiologischen Lokalisation - der Gebärmutter Schleimhaut - auftritt. Diese ektopen Schleimhautinseln finden sich außerhalb des Cavum uteri und können im gesamten Körper auftreten.

Das Gewebe besteht aus endometrioiden Drüsenzellverbänden und/ oder Stromazellen. Wie die eutopie Endometriumschleimhaut, unterliegt auch das ektopie Gewebe dem hormonellen Zyklus. Es unterscheidet sich jedoch in diversen Punkten davon z.B. in der Histologie und Morphologie der Zellen, sowie in der enzymatischen Aktivität, Proteinexpression und Abstammung. Daher kann man nicht davon ausgehen, dass es sich lediglich um disloziertes Endometrium handelt.

1.1.2 Epidemiologie

Aufgrund der hormonellen Beeinflussbarkeit sind vor allem Frauen im reproduktionsfähigen Alter betroffen. Die Schätzungen der Inzidenz/Prävalenz variieren zwischen 2-20% der weiblichen Population je nach Studie. (Kiechle, 2006, Breckwoldt M., 2007) Das statistische Bundesamt gibt in seinen Daten rund 28.000 Krankenhautaufenthalte im Jahr 2017 mit der Indikation Endometriose an. (DESTATIS, 2018) Die Prävalenz der Erkrankung ist schwierig einzuschätzen, da sich die Klinik sehr variabel präsentiert und die definitive Diagnosesicherung nur über eine operative Abklärung, wie die Laparoskopie erfolgen kann. Zudem gibt es keine verlässlichen Daten, da vorhandene Studien oft auf zu kleinen Fallzahlen basieren oder eine mangelnde Methodenqualität aufweisen. Zwischen dem Auftreten der ersten Symptome und der Diagnosestellung in deutschsprachigen Ländern liegen durchschnittlich rund 10 Jahre. (Hudelist et al., 2012)

Durch die Hormonabhängigkeit der Erkrankung, bessert sich der Verlauf bei den betroffenen Patientinnen in der Menopause oder während einer Schwangerschaft. (Barra et al., 2019) Außerdem scheint die Endometriose familiär gehäuft aufzutreten, was auf eine genetische Komponente in der Ätiologie hinweist. (Simpson et al., 1980)

Aus der Epidemiologie lassen sich also folgende Risikofaktoren ableiten: eine frühe Menarche und späte Menopause, eine späte erste oder gar keine Schwangerschaft sowie eine genetische Disposition.

Volkswirtschaftlich ist der Endometriose eine große Bedeutung zuzuschreiben, da die Kosten bedingt durch den medizinischen Aufwand und den Arbeitsausfall, der meist jungen und erwerbstätigen Patientinnen immens hoch sind. (Soliman et al., 2016, Nnoaham et al., 2011)

1.1.3 Klassifikation

Die Klassifikation kann nach Lokalisation der Herde und nach Stadium der Erkrankung erfolgen. Zudem unterscheidet man zwischen oberflächlicher und tief-infiltrierender Endometriose (TIE).

Betrachtet man die Lokalisation, unterteilt man Endometriosis genitalis interna (Adenomyosis uteri), Endometriosis genitalis externa und Endometriosis extragenitalis. (Kistner et al., 1977) Bei der Endometriosis genitalis interna finden sich die ektopen Zellen im Myometrium und im Abgangsbereich der Tuben. Die Endometriosis genitalis externa ist durch einen Befall weiterer weiblicher Geschlechtsorgane (Tuben, Ovarien, Sakrouterinbänder, Douglas-Raum, Vagina, Vulva, Perineum) und des Peritoneums gekennzeichnet. Bei der extragenitalen Form finden sich Endometriumzellen in Organen, die nicht zu den weiblichen Geschlechtsorganen zählen. Häufig betroffen sind Harnblase, Darm mit Appendix vermiformis, Bauchnabel und Retroperitoneum, seltener Lunge, Zwerchfell oder Gehirn. (Redwine, 2002, Victory et al., 2007) Theoretisch kann jedes Organ des Körpers befallen sein. Die häufigsten Lokalisationen sind jedoch im Bereich des Beckens gelegen.

Die American Society of Reproductive Medicine (ASRM) unterteilt vier verschiedene Stadien anhand eines Punktescores, der Parameter wie Anzahl, Größe, Lokalisation der Endometrioseherde, sowie Adhäsionen berücksichtigt. Die Punkte des Scores werden addiert und ergeben so eine Einteilung in die rASRM-Stadien I (minimal), II (gering), III (mäßig) oder IV (schwer). Die Klassifikation wird international am häufigsten verwendet und ermöglicht so eine gute Vergleichbarkeit von Schweregraden der Erkrankung, die z.B. in Studien von Nutzen sein kann. Nachteilig ist, dass ausschließlich die makroskopische Ausdehnung der Erkrankung wie sie sich intraoperativ darstellt, betrachtet wird. Diese Einschätzung unterliegt einer hohen Interobserver-Variabilität und zudem liegt die Rate an falsch positiven Diagnosen bei >20%. (Schliep et al., 2017) Aus diesem Grund könnte die Ausdehnung der Erkrankung leicht überschätzt werden und eine histopathologische Sicherung der vermuteten Endometrioseherde sollte unbedingt durchgeführt werden, damit es nicht zu Fehldiagnosen kommt. Ein weiterer Schwachpunkt des Scores ist, dass die tief-infiltrierende Endometriose unberücksichtigt bleibt. Diese findet Beachtung in der deutschen ENZIAN-Klassifikation, die die Ausdehnung des Befalls in drei anatomische Ebenen (Kompartiment A, B und C) unterscheidet. Zudem wird die Größe der Herde berücksichtigt, die eine starke Assoziation zu der Symptomatik der Patientinnen aufweist. (Haas et al., 2013)

In die neue #ENZIAN-Klassifikation wurden noch weitere Lokalisationen (wie Ovar, Tube, Peritoneum) und Wachstumsformen aufgenommen. Sie ist sowohl bei der laparoskopischen Diagnostik, als auch bei der bildgebenden (Sonographie und MRT) einsetzbar. Allerdings werden keine Symptom-spezifischen Parameter wie Schmerz

und Sterilität abgefragt, sodass keine Aussage über den Krankheitsverlauf getroffen werden kann.(S3 Expertenkonsens, Konsensusstärke ++++).

Anamnestische Kriterien werden hingegen durch den Endometriosis Fertility Index (EFI) berücksichtigt. Neben diesen stützt sich der Score auf medizinische Daten, die intraoperativ erhoben werden können. Mit dem EFI lässt sich die Chance errechnen, für eine Patientin mit Kinderwunsch innerhalb der nächsten 36 Monate schwanger zu werden.(Adamson and Pasta, 2010)

1.1.4 Symptomatik/Klinik

Die Endometriose wird aufgrund ihres sehr unterschiedlichen Bildes auch als Chamäleon der Gynäkologie bezeichnet. Zudem korreliert die Ausprägung der Symptome nicht immer mit der Größe der Befunde. Die Erkrankung kann auch asymptomatisch verlaufen und wird häufig als Zufallsbefund bei einer Operation aus anderer Indikation, wie z.B. unerfülltem Kinderwunsch, entdeckt. Wenn Symptome auftreten, sind diese oft umfangreich und unspezifisch. Die Leitsymptome bestehen aus der Trias von abdominellen zyklussynchronem Crescendoschmerz (meist circa zwei Tage vor Menstruationsbeginn; Schmerzintensität nimmt zu und lässt mit Einsetzen der Regelblutung nach), sekundärer Dysmenorrhoe und Dyspareunie. Letztere vor allem bei Befall der Vagina oder des Douglasraums.

Bei einer TIE, welche die extragenitale Organe betrifft, können dementsprechende Beschwerden wie gastrointestinale und urologische Störungen auftreten. Zyklische Hämaturie und Dysurie bei Blasenbefall, Hämatochezie und Dyschezie bei Darmbefall, und Hämoptysen bei Lungenbefall sind denkbar. Auch Obstipation bis Ileus und Harnstau können schwere Komplikationen bei Ummauerung des Darms bzw. der Harnleiter durch Strikturen sein.(Palla et al., 2017) Durch Verwachsungen kann es auch zu zyklusunabhängigen Unterbauchschmerzen kommen.

Bei genitalem Befall treten oft prä- und postmenstruelle Blutungen (Spotting), Menorrhagien, Metrorrhagien und/oder Hypermenorrhoe auf. Zur Hypermenorrhoe kommt es oft bei Vorliegen einer Adenomyosis uteri.(Cockerham, 2012)

Manifestiert sich die Endometriose am Ovar spricht man von Endometriomen oder sog. Schokoladen- oder Teerzysten, die ihren Namen dem geronnenen Blut im Inneren verdanken. Diese Zysten können dauerhaft Beschwerden machen.

Äußerst selten kann eine maligne Entartung der Endometriome zur Entstehung eines endometrioiden Ovarialkarzinoms führen.(Somigliana et al., 2006, Kim et al., 2014, Zafrakas et al., 2014)

Darüber hinaus ist die Endometriose stark mit Sterilität assoziiert. So konnte bei 30-50% der Frauen mit Sterilitätsproblemen histologisch eine Endometriose nachgewiesen werden.(Macer and Taylor, 2012) Ovarielle Zysten können die Ovulation behindern und Tubenwinkelendometriose behindert die Wanderung der Eizelle in das Uteruskavum. Der Tubenverschluss, der in den meisten Fällen durch Verwachsungen entsteht, kann auch eine Extrauterin gravidität in Form einer

Eileiterschwangerschaft bedingen.(Yong et al., 2020) Die Spermien können dann noch die Engstelle überwinden, die Eizelle jedoch nicht, sodass eine Befruchtung und Einnistung vor Ort in der Tube stattfindet. Auch Frauen mit makroskopisch unauffälliger Tubenfunktion können betroffen sein. Außerdem sind die Schwangerschaftsraten nach IVF/ICSI in diesem Kollektiv schlechter, was sich allerdings nicht durch einen gestörten Transportmechanismus der Eizelle erklären lässt. Es wird daher vermutet, dass neben dem Transport der Eizelle auch die Einnistung in das Endometrium gestört sein könnte.(Carvalho et al., 2013, Kokcu, 2013, Lessey, 2011)

Den Leidensdruck der Patientinnen erhöht zudem eine hohe Rezidivrate, die wiederholte, teils invasive therapeutische Interventionen verlangt.(Kim et al., 2022, Wacharachawana et al., 2021, Won et al., 2020) Die vielfältigen Beeinträchtigungen in der Lebensqualität, sowohl im privaten Alltag, als auch beruflich, konnten in Studien erwiesen werden.(Bourdel et al., 2019)

1.1.5 Diagnostik

Aufgrund der Vielfalt und unterschiedlichen Symptomausprägung ist in der Diagnostik eine strukturierte Anamneseerhebung von großem Wert. Diese kann mit einem spezifischen Fragebogen erfolgen und sollte vor allem die Leitsymptome Dysmenorrhoe, Dysurie, Dyschezie, Dyspareunie und Sterilität abfragen.(Leitlinienprogramm DGGG, 2018b, Burghaus et al., 2016)

Bei der körperlichen Untersuchung kann man Herde ggf. sehen oder tasten. Der Befall des hinteren Scheidengewölbes kann bei der Inspektion mit geteilten Spekula entdeckt werden. Bei der bimanuellen Palpation sind bei Befall des Septum rektovaginale derbe Knoten palpierbar.

Mittels transvaginaler Sonographie kann man die typischen ovariellen Endometriome nachweisen, die sich als glatt begrenzte Raumforderung mit homogen-echoarmer Binnenstruktur präsentieren.

Auch der Verdacht auf die Endometriosis genitalis interna kann sich bei der transvaginalen Sonographie ergeben, Diese präsentiert sich durch einen vergrößerten Uterus mit diffus-streifigem Myometrium. Für die sonografische Darstellung der Adenomyosis uteri haben z.B. Meredith 2009 und Lavy 2012 folgende Diagnosekriterien festgelegt, um die Diagnosesicherheit zu erhöhen: „subendometriale Mikrozysten, lineare hyperdense Strukturen, myometrale Zysten, schlechte Abgrenzbarkeit der Junctionszone, Nodules, Fragezeichen-Zeichen, diffuser Doppler, Wanddicke > 2cm, Asymmetrie zwischen Vorderwand und Hinterwand-Dicke“.

Andere Bildgebungen kommen bei extragenitalem Befall in Frage, wie bspw. eine Magnetresonanztomographie (MRT), eine Zysto- oder Koloskopie. Bei V.a. eine TIE oder einen ovariellen Befall, soll nach Leitlinie auch eine beidseitige Nierenultraschalluntersuchung erfolgen, um eine obstruktive Uropathie bei Ureterinfiltration zu entdecken.(Palla et al., 2017)

Auch wenn eine primäre Bildgebung in der Diagnostik angezeigt ist (Noventa et al., 2015), kann diese maximal zur OP-Planung beitragen, einen chirurgischen Eingriff jedoch nicht ersetzen. (Nisenblatt et al., 2016)

Die Sicherung der Diagnose kann letztlich nur durch die histologische Aufarbeitung von Gewebeproben erfolgen. Daher ist bisher der Goldstandard eine Laparoskopie, bei der Proben zur histologischen Diagnosesicherung gewonnen werden. (Hirsch et al., 2018, Schliep et al., 2017) Der Eingriff kann zugleich therapeutisch genutzt werden.

Diagnostisch wegweisend kann auch ein Therapieversuch mit einer monophasischen Gestagen betonten oralen Kontrazeptivgabe für 3-6 Monate im Langzeitzyklus sein, d.h. eine kontinuierliche Einnahme des Präparates ohne die übliche Pause nach 21 Tagen. (Edelman et al., 2014, Muzii et al., 2016) Diese wird einem invasiven Eingriff in der Praxis häufig vorgezogen.

Zusammenfassend führen die diffuse Symptomatik und die Tatsache, dass die sichere Diagnose nur operativ gestellt werden kann dazu, dass es im Durchschnitt 10 Jahre ab Beginn der Beschwerden dauert, bis eine Patientin richtig diagnostiziert wird. (Hudelist et al., 2012)

Eine vielversprechende neue diagnostische Methode könnte der Endo-Test der französischen Firma Ziwig sein. Dieser beruht auf dem Nachweis von Endometriose spezifischer Mikro-RNA im Speichel. Er wurde bei insgesamt 200 Patientinnen getestet und zeigte eine hohe Sensitivität sowie Spezifität. (Bendifallah et al., 2022) Der klare Vorteil liegt in der geringen Invasivität und leichten Verfügbarkeit. So könnten zukünftig Endometriosepatientinnen schnell, zuverlässig und nebenwirkungsfrei diagnostiziert werden.

1.1.6 Histopathologie

Makroskopisch zeigen sich Endometrioseherde häufig als gelb-bräunlich, manchmal bläulich-violette oder rötliche stecknadelkopfgroße Läsionen. Ovarielle Endometriome werden auch als Schokoladen- oder Teerzysten bezeichnet, da sie durch geronnene Einblutungen mit bräunlicher Flüssigkeit gefüllt sind.

In der Histologie erkennt man typisch endometriale Drüsen und umgebendes Stroma (endometriales bzw. zytozogenes Stroma) außerhalb des Cavum uteri. (Clement, 2007) Doch der Nachweis an endometrioiden Drüsenzellverbänden kann auch fehlen, was als stromale Endometriose bezeichnet wird. (Clement, 2007, Clement and Young, 2000) Die Verwendung von immunhistochemischen Färbungen in Zusatzuntersuchungen kann nötig sein, um einige Differenzialdiagnosen auszuschließen, wenn sich die Endometriose morphologisch in der Hämatoxylin-Eosin-Färbung nicht zweifelsfrei verifizieren lässt. (Leitlinienprogramm DGGG, 2018c)

Die Adenomyosis uteri ist histopathologisch definiert, als Nachweis von Endometrioseherden im Myometrium mit einem Abstand von 2,5 mm zum Endometrium, wobei die Grenze zwischen den beiden Gewebsschichten undulierend verläuft. (Cockerham, 2012, Ferenczy, 1998) Dabei kommt es nicht nur zur

myometranen Architekturstörung, sondern periläsional oft zu einer reaktiven Proliferation des Myometriums.(Wilbur et al., 2017)

Die TIE manifestiert sich häufig am Darm und durchbricht dort die Submukosa.(Charatsi et al., 2018) In der Harnblase siedeln sich Herde zumeist in der Detrusormuskulatur im Bereich des Trigonum vesicae und dem Apex der Harnblase an.(Kolodziej et al., 2015, Villa et al., 2007)

Kommt es zur Ansammlung von knotiger Endometriose im Bereich der Abgänge der Tubae uterinae, spricht man von der Salpingitis isthmica nodosa. Bei dieser handelt es sich im eigentlichen Sinn nicht um eine Entzündung, sondern um eine Ansammlung an Endometrioseherden, die die Durchlässigkeit der Tuben mindern und das Risiko einer Extrauterin gravidität und/ oder einer Sterilität erhöhen.(Carvalho et al., 2013, Lessey, 2011)

Zwar ist die Endometriose eine Erkrankung benignen Genese, doch sie weist einige Merkmale eines malignen Phänotyps auf: Multifokalität, intravasale Nachweisbarkeit und Fernabsiedlungen. Zudem sind auch pro-inflammatorische und pro-angiogene Faktoren sowohl beim Tumorwachstum, als auch in Endometrioseherden nachweisbar(Gordts et al., 2017). Äußerst selten kommt es zu einer malignen Entartung der Endometrioseherde. Aus einem Endometriom kann so ein Ovarialkarzinom entstehen. Es sind endometriode, klarzellige und low-grade seröse Ovarialkarzinome im Zusammenhang mit Endometriose beschrieben.(Pearce et al., 2012, Wilbur et al., 2017, Bassiouny et al., 2019) Patientinnen mit Endometriose haben ein 1,3 bis 4-fach höheres Erkrankungsrisiko für ein Ovarialkarzinom.(Somigliana et al., 2006, Kim et al., 2014, Zafrakas et al., 2014) Und auch das endometriode Adenokarzinom des eutopen Endometriums zeigt sich in populationsbezogenen Studien bei Patientinnen mit Endometriose häufiger.(Kok et al., 2015, Habiba et al., 2018) Da allerdings das Erkrankungsrisiko insgesamt sehr gering ist, kann man bei der Endometriose nicht von einer prämaligen Läsion sprechen.

1.1.7 Therapie

Da es sich um eine chronische Erkrankung mit sehr unterschiedlicher Symptomlast handelt, ist es wichtig, ein individuell angepasstes Therapiekonzept gemeinsam mit der Patientin zu finden. Behandlungsbedürftig ist die Endometriose, wenn es zu einer subjektiven Beeinträchtigung der Frau kommt, oder das Risiko einer Organdestruktion vorliegt. Heilbar ist die Erkrankung nicht und neigt zu häufigen Rezidiven.(Wacharachawana et al., 2021, Won et al., 2020, Kim et al., 2022) Auch eine mögliche Prävention ist noch nicht bekannt. Somit sollten die Ziele der Therapie eine Reduktion von Beschwerden, eine Vermeidung von Langzeitschäden und eine Verbesserung der Lebensqualität sein. Je nachdem ob ein Kinderwunsch besteht oder nicht, kommen verschiedene Ansätze in Frage. Bei Kinderwunsch sollte frühestmöglich eine Anbindung an ein Kinderwunschzentrum erfolgen.

Grundsätzlich stützt sich die Therapie auf medikamentöse, operative und interventionelle Grundpfeiler. Zudem sind auch supportive Maßnahmen sehr wichtig.

Am häufigsten findet die medikamentöse Behandlung Anwendung. Ziel dieser ist die Unterbrechung des zyklischen, vor allem östrogenabhängigen Wachstums der Endometrioseherde. Dazu wird therapeutisch eine Amenorrhoe induziert. Dies führt bei allen hormonellen Behandlungsoptionen dazu, dass die Proliferation der Läsionen reduziert wird, was sich wiederum positiv auf die Schmerzen und Blutungsstärke auswirkt.(Barra et al., 2018) Die Erstliniensubstanz in Deutschland ist ein Gestagen (z.B. Dienogest). Für dieses Präparat liegt die größte Evidenz in der Reduktion von Dysmenorrhoe, chronischen Unterbauchschmerzen und der Anzahl an Rezidiven nach einer Laparoskopie vor.(Takaesu et al., 2016) Gestagene wirken durch die Induktion einer Dezidualisierung und Atrophie von Herden. Zudem supprimieren sie das durch Matrixmetalloproteinasen vermittelte Wachstum und hemmen die Angiogenese. Sie bedingen über die Hypothalamus-Hypophysen-Achse einen Hypoöstrogenismus, woraus sich die unerwünschten Arzneimittelwirkungen dieser Therapie ableiten. So kann es zu Gewichtszunahme und bei Langzeitanwendung auch zur Abnahme der Knochendichte kommen.(Ebert et al., 2017)

In der Zweitlinientherapie können auch kombinierte orale Kontrazeptiva als „off-label-use“ eingesetzt werden. Hier wird zu dem Gestagen Ethinylestradiol im Langzeitzyklus kombiniert.(Edelman et al., 2014, Jensen et al., 2018) Dies führte in Studien zur Besserung der Beschwerden und Verlängerung des rezidivfreien Intervalls.(Hirsch et al., 2018)

Auch die Gabe von Gonadotropin-releasing hormone (GnRH-Analoga) (z.B. Elagolix) ist in der Zweitlinientherapie möglich und zeigt Erfolge in der Schmerzreduktion.(Taylor et al., 2017) Die Agonisten wirken über die Blockade von GnRH-Rezeptoren im Bereich des Hypophysenvorderlappens. So kommt es zu einer stetigen Überstimulation der Hypophyse mit allmählicher Down-Regulation der GnRH-Rezeptoren. Die Hypophyse wird im Behandlungsverlauf für GnRH refraktär und es kommt zu einer Senkung der FSH/LH-Spiegel. Durch die so erreichte Ovarsuppression sinkt auch der Östrogenspiegel, wodurch wiederum der Wachstumsreiz für die Endometriose entzogen wird. Diese Therapieform geht allerdings mit sehr starken unerwünschten Arzneimittelwirkungen einher. So leiden die Patientinnen häufig unter Kopfschmerzen, Obstipation und Wechseljahresbeschwerden (z.B. Hitzewallungen, Libidoverlust, Scheidentrockenheit). Zudem besteht auch hier ein erhöhtes Risiko für den Verlust der Knochendichte bei einer Anwendung über 3-6 Monate hinaus.(Barra et al., 2019) Da die Nebenwirkungen vor allem durch den Östrogenmangel bedingt sind, kommt eine Add-back Therapie in Frage, bei der durch die Hinzugabe eines kombinierten oralen Kontrazeptivums (KOK) die klimakterischen Beschwerden reduziert und die Knochengesundheit verbessert werden können, ohne die therapeutische Wirksamkeit des GnRH-Analogons zu beeinflussen.(Wu et al., 2014, Lee et al., 2016)

In einigen klinischen Studien wurden bei sehr ausgeprägten Beschwerden und Therapierefraktärität auch Aromatasehemmer getestet, da in Endometriosezellen eine vermehrte Aromataseaktivität nachgewiesen werden konnte. Da diese jedoch mit

einem großen Nebenwirkungsspektrum einhergehen, ist die routinemäßige Anwendung nicht sinnvoll.(Barra et al., 2018) Ein viel versprechender Ansatz ist die Verwendung des Progesteron-Rezeptor-Modulators (PRM) Mifepriston. In Studien konnte eine Reduktion von Dysmenorrhoe und Dyspareunie gezeigt werden.(Fu et al., 2017) Allerdings liegen hier keine ausreichenden Daten im Vergleich zu anderen Behandlungsoptionen vor, sodass die routinemäßige Anwendung nicht empfohlen wird.(Fu et al., 2017)

Ein weiterer neuer Behandlungsansatz, der in Studien getestet wird, ist der Einsatz von Statinen. Da diese als Angiogeneseinhibitoren wirken und eine antiinflammatorische Aktivität zeigen, könnte ihre Anwendung vielversprechend sein. Doch auch zu diesem Konzept liegen bislang nicht genügend Daten vor.(Vitagliano et al., 2016)

Neben der medikamentösen Therapie stützt sich das Behandlungskonzept auch auf eine operative Säule. Nach einer medikamentösen Anbehandlung sollte eine Laparoskopie erfolgen, die den Goldstandard zur Diagnosesicherung darstellt und auch direkt einen Pfeiler der Therapie verkörpert.(Schliep et al., 2017, Hirsch et al., 2018) Hierbei können alle makroskopisch sichtbaren Endometrioseherde entfernt werden. Im Behandlungserfolg gleichwertig ist neben der Exzision der Herde auch die Ablation.(Riley et al., 2019) Allerdings besteht hier nicht die Möglichkeit der histologischen Sicherung des Befundes. Während des operativen Eingriffs können zudem Schokoladenzysten ausgeschält und Verwachsungen gelöst werden. Bei diffuser Adenomyosis uteri kann nach abgeschlossener Familienplanung eine Hysterektomie empfohlen werden.(S3-Leitlinie, 2015) Bei sehr schweren Befunden und extragenitalem Befall, kann unter Umständen auch eine Laparotomie erforderlich sein. Diese ist allerdings mit längerer Operationszeit, höherem Blutverlust, größerer Hospitalisationszeit und einer längeren Inzision verbunden.(Ruan et al., 2015) Es sollte laut Leitlinie bei symptomatischen Patientinnen mit TIE eine komplette Resektion angestrebt werden, wenn die erwarteten Vorteile einer Schmerzreduktion, die Nachteile einer möglichen Organbeeinträchtigung überwiegen.(Chaichian et al., 2017) Interventionelle Eingriffe wie eine koloskopische oder zystoskopische Entfernung von extragenitalen Endometrioseherden können zusätzlich nötig sein.(Charatsi et al., 2018)

Postoperativ kann dann durch die Gabe eines KOK im Langzeitzyklus oder von Gestagen, die Rezidivrate von Endometriomen und die Rate an Beschwerden reduziert werden.(Zorbas et al., 2015) Auch durch die Anwendung von GnRH-Analoga über 6 Monate konnte das Rezidivrisiko signifikant reduziert werden.(Zheng et al., 2016)

Unterstützend können jederzeit nicht steroidale Antirheumatika (NSAR) zur Schmerzlinderung verabreicht werden. Diese zeigen bei 45-53% der Frauen, die unter Dysmenorrhoe leiden eine Schmerzreduktion.(Sharghi et al., 2019) Auch weitere supportive Maßnahmen wie Physiotherapie und Psychotherapie sind hilfreich.(Evans et al., 2019, Molins-Cubero et al., 2014) Die Anwendung von integrativer Medizin wie z.B. chinesischen Phytotherapeutika, Lichttherapie und Akupunktur kann auf Wunsch der Patientin ergänzend zur primären Behandlung der Dysmenorrhoe erfolgen.(Meissner et al., 2016, Armour et al., 2016)

Insgesamt ist die Therapie der Endometriose sehr invasiv, nebenwirkungsreich und hat negative Auswirkungen auf die Konzeption. Sie beeinflusst den weiblichen Zyklus und heilt die Erkrankungen nicht. Auch wenn es vorübergehend zu Linderung der Beschwerden kommt, sind Rezidive häufig.

1.1.8 Prognose

Endometriose neigt zu häufigen Rezidiven und ist eine chronische Erkrankung.(Won et al., 2020, Wacharachawana et al., 2021, Kim et al., 2022) Bei einigen Frauen kommt es nach einer Schwangerschaft zu einer dauerhaften Besserung der Beschwerden. Bei den meisten wird nach der Menopause mit Sistieren des Östrogeneinflusses eine Beschwerdefreiheit erreicht.(Noble et al., 1996)

1.1.9 Ätiologie

Die Ätiologie der Endometriose wird seit der wissenschaftlichen Erstbeschreibung durch Rokitansky im Jahre 1860, kontrovers diskutiert. Einige Theorien fanden dabei vermehrt Anklang: die wahrscheinlich anerkannteste ist die Implantationstheorie nach Sampson, welche besagt, dass endometriales Gewebe während der retrograden Menstruation über die Tuben in den Bauchraum gelangt und sich dort implantieren kann.(Sampson, 1927) Aufgrund von Krämpfen der Uterusmuskulatur kommt es zum Herauslösen von einzelnen Zellen, die dann verschleppt werden. Nicht nur über die Tuben ist eine Verschleppung denkbar, sondern auch über die Blutbahn oder die Lymphwege, ähnlich dem Ausbreitungsmuster von Metastasen (hämatogene und lymphogene Streuung) bei Malignomen.

Die Metaplasietheorie beruht auf der Annahme, dass Endometrioseherde aus pluripotentem Zölomepithel entstehen, indem dieses sich unter Östrogeneinfluss in Müller-Gangepithel umwandelt.(Meyer, 1919) Grundlage dieser Idee ist die Beobachtung, dass das Endometrium entwicklungsgeschichtlich aus demselben Gewebe hervorgeht wie das Peritoneum, nämlich aus dem Mesoderm, genauer gesagt dem Zölomepithel. Beide Theorien vereinigt die Induktionshypothese, die davon ausgeht, dass die retrograde Menstruation ein Stimulus für die Metaplasie des Mesothels sein könnte.(Vinatier et al., 2001)

Auch für eine genetische Komponente bei der Pathogenese sprechen einige Argumente. So führten beispielsweise Studien, das Risiko an Endometriose zu erkranken, zu 51% auf genetische Faktoren zurück.(Kiechle, 2006) Bei Verwandten ersten Grades einer betroffenen Patientin ist die Wahrscheinlichkeit an Endometriose zu erkranken erhöht und auch das Rezidivrisiko für alle Verwandten ersten Grades liegt bei 6,9%(Simpson et al., 1980). Epidemiologische Studien deuten auf eine multifaktorielle polygenetische Vererbung hin, wobei bislang keine konkreten Genloki ausfindig gemacht werden konnten.(Kiechle, 2006) Vielleicht handelt es sich auch um eine epigenetische Vererbung, bei der Umwelteinflussfaktoren eine große Rolle spielen.(Lao et al., 2016)

Möglich ist auch eine Beteiligung des Immunsystems bei der Krankheitsentstehung. Bei einer Funktionsstörung der natürlichen Killerzellen ist der Abbau von ektopem Gewebe vermindert.(Haney et al., 1981) Makrophagen hingegen regen durch die Sekretion von Zytokinen und Wachstumsfaktoren die Proliferation von endometrialen Zellen im Bauchraum an.(Symons et al., 2018) Hierdurch entsteht also der Wachstumsreiz, der die Proliferation provoziert.

Epidemiologisch gibt es statistisch relevante Häufungen bei bestimmten Begleiterkrankungen. So scheint es einen Zusammenhang z.B. zwischen Allergien und Autoimmunerkrankungen mit Endometriose zu geben. In welcher Beziehung diese Assoziation jedoch steht ist ungewiss. Es könnte sich um einen Risikofaktor oder auch um ähnliche Pathomechanismen und damit auslösende Faktoren handeln.(Bungum et al., 2014, Shigesu et al., 2019)

Die Angiogenese spielt eine besonders wichtige Rolle bei der Ätiopathogenese, da die Herde zum Wachsen ihre eigenen Gefäße und den Anschluss an die Blutversorgung benötigen. Sie sind auf die Versorgung mit Sauerstoff und Nährstoffen angewiesen und auch auf die hormonelle Stimulation. Zudem müssen auch die Endometrioseinseln ihre Stoffwechselabbauprodukte, wie alle anderen vitalen Zellen, über das Blut abgeben und entsorgen. Hier sind angiogenetische Faktoren, Steroide und Wachstumsfaktoren aus der Peritonealflüssigkeit entscheidend für die Sprießung von neuen Gefäßen und die Ansiedlung von endometrioiden Zellen. Wichtige Angiogenesefaktoren, die in verschiedenen Arbeiten identifiziert werden konnten sind der Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), der Fibroblast Growth Factor (FGF) und der Platelet Derived Growth Factor (PDGF).(Emamifar et al., 2012, Nap et al., 2003)

Auch oxidativer Stress könnte einen fördernden Einfluss auf die Entstehung von Endometriose haben. Ursachen für oxidativen Stress könnte apoptotisches endometriales Gewebe sein oder vermehrt aktive Makrophagen.(Gordts et al., 2017, Koninckx et al., 2019, Parazzini et al., 2017)

Fest steht, dass bei Endometriose-Patientinnen die Kommunikation zwischen Stammzell-Signalwegen und den Signalwegen der Hormone Östrogen und Progesteron gestört ist. Verursacht wird diese gestörte Kommunikation womöglich dadurch, dass Stammzellen an ihre Nachkommen eine Progesteron-Resistenz vererben.(Barra et al., 2019) Durch den prämenopausalen Erkrankungszeitpunkt wird deutlich, dass der hormonelle Einfluss eine entscheidende Komponente in der Pathogenese der Endometriose darstellt. Diese Theorie wird dadurch untermauert, dass in der Therapie der Endometriose hormonsenkende Konzepte einen mildernden Effekt zeigen. Natürlich weist auch postmenopausales Endometrium Stammzellen auf, doch ohne den wechselseitigen Einfluss der Hormone Östrogen und Progesteron bleibt eine Krankheitsentstehung aus.(Barra et al., 2019)

Neben diesen mechanischen, genetischen, immunologischen und endokrinen Entstehungstheorien, ist auch eine iatrogene Verschleppung von endometrialen Zellen

bei eröffnenden Eingriffen des Cavum uteri denkbar.(K. J. Bühling, 2008) Wie es die relativ kurzlebigen Endometriumzellen schaffen, sich im extrauterinen Milieu anzusiedeln, erklärt die Stammzellhypothese.(Diedrich, 2007) Diese geht davon aus, dass sich neben Epithelzellen auch einzelne Stammzellen der Basalis in den Herden befinden, welche aufgrund ihrer Telomerasekompetenz zeitweise proliferieren können und der Endometriose eine gewissen Apoptoseresistenz ermöglichen.(Diedrich, 2007) So wurde ein signifikant verlängertes Überleben der Zellen nachgewiesen. Dieses ist auf eine veränderte DNA-Fragmentation zurückzuführen sowie auf eine veränderte Zellproliferation und -differenzierung. Dass eine fehlerhafte Funktion endometrialer Stammzellen einen Pathomechanismus der Endometriose bedingen könnten, postulieren Götte M. & Kiesel L. in aktuell veröffentlichten Studien. Die Beteiligung von Stammzellen wurde in vielen verschiedenen Arbeiten untersucht. Unter anderem konnten einige Stammzellmarker nachgewiesen werden.

1.2 Stammzellen

1.2.1 Was kennzeichnet Stammzellen

Stammzellen haben besondere Eigenschaften, die dazu führen, dass sie essentiell für komplexe und langlebige Organismen sind. Sie zeichnen sich vor allem durch zwei Schlüsselfertigkeiten aus: Selbsterneuerung und Differenzierung. Bei der symmetrischen Teilung entstehen aus einer Mutterzelle zwei identische Tochterzellen. So können immer wieder neue Zellen mit denselben Fähigkeiten und denselben Eigenschaften produziert werden, was dazu führt, dass sich die Stammzellen potentiell unbegrenzt oft selbsterneuern können.

Teilt sich die Mutterzelle asymmetrisch, entsteht eine weitere Stammzelle, die den Pool der Stammzellen erhält und eine zweite Zelle, die bereits den ersten Schritt zur Ausdifferenzierung gemacht hat. Durch die neuen Zellen können Organe aufgebaut und repariert bzw. erneuert werden. Somit sind Stammzellen die Vorläuferzellen aller hoch differenzierten somatischen Zellen.

Eine weitere Eigenschaft von Stammzellen ist die Klonalität bzw. Klonierbarkeit. Damit ist die Fähigkeit gemeint, als einzelne Zelle zu überleben, sich zu vermehren und den Mutterphänotyp zu erhalten. *In vivo* geschieht dies allerdings auch durch die Interaktion mit Helfer- oder Nischenzellen. Selbst ohne Teilung sind Stammzellen dazu fähig zu überleben. Diesen Ruhezustand bezeichnet man auch als dormancy oder hibernation.

1.2.2 Welche Arten von Stammzellen gibt es

Stammzellen sind quasi die Ursprungszellen jedes Organismus. Aus ihnen entstehen alle differenzierten Zellen der verschiedenen Gewebe. Doch nicht jede Stammzelle ist dazu fähig, jede Zellart auszubilden. Daher lassen sich Stammzellen aufgrund ihres Entwicklungspotenzials und ihrer Herkunft in verschiedene Gruppen gliedern.

Die ursprünglichste Form der Stammzelle beim Menschen ist die Zygote – die befruchtete Eizelle. Aus ihr kann sich ein gesamter Mensch und die Plazenta entwickeln. Diese Fähigkeit nennt sich Omnipotenz.

Ca. 5-6 Tage nach der Befruchtung entwickelt sich die Blastozyste. In diesem Stadium handelt es sich um embryonale Stammzellen, die pluripotent sind. Das bedeutet, diese Stammzellen können jedes menschliche Gewebe aller drei Keimblätter (Ektoderm, Entoderm, Mesoderm) hervorbringen, allerdings keinen vollständigen Menschen mehr.

Nach der Geburt bezeichnet man alle Stammzellen als adulte Stammzellen. Diese sind bereits spezialisierter und weniger wandelbar, da sie in der Regel nur zu Gewebe eines Keimblatts differenzieren können. Adulte Stammzellen sind somit multipotent. Sie kommen bis ins hohe Alter in allen Geweben des menschlichen Körpers vor und erfüllen die Funktion immer neue Zellen, zur Regeneration und zum Organerhalt, zu liefern.

Die unterste Stufe der Potentialität repräsentieren unipotente Stammzellen wie z.B. die epidermalen Stammzellen in der Basalschicht der Haut; diese können sich ausschließlich zu Keratinozyten differenzieren.

Die Potentialität nimmt also während den verschiedenen Entwicklungsstadien von der befruchteten Eizelle bis zur spezialisierten Körperzelle ab.

1.2.3 In Vitro Stammzellen

Im Jahr 2012 gewannen der japanische Stammzellforscher Shin`ya Yamanaka und sein britischer Kollege den Medizin-Nobelpreis für ihre Forschung, bei der es gelungen ist durch Reprogrammierung pluripotente Stammzellen herzustellen.(Takahashi and Yamanaka, 2006)

Diese induzierten pluripotenten Stammzellen (iPS – induced Pluripotent Stem Cells) konnten durch die Verwendung von Transkriptionsfaktoren verjüngt, sprich in einen früheren Entwicklungszustand zurück versetzt werden. Sie waren fast so kompetent in ihrer Differenzierungsfähigkeit wie embryonale Stammzellen. Für die Reprogrammierung wurden die Gene Oct4, Sox2, c-Myc und Klf4 mittels Viren in die jeweilige Zelle eingeschleust.

Eine andere Möglichkeit zur Herstellung von *in Vitro* Stammzellen ist der Zellkerntransfer (SCNT – Somatic Cell Nuclear Transfer). Hierbei wird bei einer Eizelle der Zellkern entfernt und durch den einer somatischen Zelle ersetzt. Es handelt sich somit um einen Klonvorgang. Die Zellen, die bei diesem Verfahren entstehen, sind ebenfalls pluripotent. Den amerikanischen Wissenschaftlern Masahito Tachibana und Shoukhrat Mitalipov gelang es im Jahr 2013 den Zellkern einer somatischen Hautzelle in eine entkernte Spender-Eizelle zu transferieren. Nach einigen Zellteilungen konnten dann menschliche embryonale Stammzellen aus den geklonten Embryonen gewonnen werden (SCNT-ESC).(Tachibana et al., 2013)

Bei der Transdifferenzierung ist es möglich, aus einer differenzierten Zelle „A“ z.B. Haut eine andere spezialisierte Zelle „B“ z.B. ein Neuron zu erzeugen. Dies geschieht ohne den Umweg der Dedifferenzierung, sprich ein pluripotentes Intermediat. Die Zellen müssen lediglich in Kontakt mit Zelltyp-spezifischen Transkriptions- und Wachstumsfaktoren gebracht werden. Im Vergleich zum Zellkerntransfer wird auch kein embryonales Gewebe wie eine Eizelle benötigt.

1.2.4 Bezug zu Endometriose

Die Erkenntnisse der oben beschriebenen Forschungen deuten darauf hin, dass unter den entsprechenden Umständen/Bedingungen ausdifferenziertes Gewebe die Fähigkeit haben könnte, zum Stammzellstatus zurückzukehren oder sich in anderes ausdifferenziertes Gewebe zu wandeln. Dieser Mechanismus könnte eine entscheidende Rolle in der Pathogenese der Endometriose spielen.

Diverse Forscher auf der ganzen Welt konnten zeigen, dass das menschliche Endometrium Stammzellen beherbergt. Hierbei handelt es sich um mesenchymale

und epitheliale Stammzellen im stromalen bzw. epithelialen Kompartiment, die ihren Sitz sehr wahrscheinlich in der Basalis des Endometriums haben.(Barra et al., 2019) Die Basalis ist die Schicht des Endometriums, die während des Menstruationszyklus intakt bleibt. Sie besteht aus den basalen Anteilen der Drüsen, dem Stroma, dem Gefäß- und Lymphsystem. Die darüber liegende Funktionalis, erneuert sich mit jedem Zyklus ca. 300-400 mal in den reproduktiven Jahren einer Frau und wächst in nur 14 Tagen bis zu 7mm.(Gargett et al., 2008) Angesichts dieser schnellen, stetigen Regeneration, überrascht es nicht, dass sich im Endometrium Stammzellen befinden müssen, die die Grundlage für die Erneuerung bilden.(Gargett et al., 2008)

Zusätzlich finden sich im Endometrium hämatopoetische Stammzellen und endotheliale Vorläuferzellen, die aus dem Knochenmark stammen und zu Stromafibroblasten bzw. Endothelzellen differenzieren.(Barra et al., 2019)

Dafür dass es sich bei Endometriose um eine Stammzellerkrankung handelt, spricht auch der chronische Verlauf mit der hohen Rezidivneigung.

1.2.5 Stammzellregulation

Die Population der Stammzellen im menschlichen Organismus unterliegt enormen Schwankungen. Doch wie wird entschieden, ob Stammzellen bloß Stammzellen bleiben, proliferieren oder ausdifferenzieren? Das Schicksal der Zellen wird *in vivo* wahrscheinlich durch diverse intrinsische und extrinsische Faktoren beeinflusst. Zu den intrinsischen Faktoren gehören die Transkriptionsfaktoren Oct3/4, Nanog und Sox2.(Morrison et al., 1997) Entscheidende äußere Einflüsse sind die Einwirkung von Wachstumsfaktoren, Interaktionen mit Nachbarzellen (Zell-Zell) sowie der Basalmembran (Zell-Matrix-Wechselwirkung). Und auch die Kommunikation mittels Liganden, die zu den Oberflächenmolekülen passen ist wichtig. Hier sind die IL6 Familie (JAK-STAT Signaltransduktionsweg)(Aznaurova et al., 2014) und die Wnt Familie (beta-catenin Signaltransduktionsweg) zu nennen.(Clevers et al., 2014) Der Wnt-beta-catenin Signaltransduktionsweg ist für die endometriale Regeneration im zyklischen Endometrium von entscheidender Bedeutung. Insgesamt 19 verschiedene Wnt- Proteine sorgen für die Aufrechterhaltung vieler Stammzellen, darunter neurale, mamäre, embryonale, mesenchymale, hämatopoetische, intestinale, gastrische und epidermale.(Clevers et al., 2014)

1.2.6 Stammzellmarker

Die Identifizierung humaner epithelialer Stammzellen ist schwierig, da es an spezifischen Markern mangelt und die Zellen *in vitro* nicht langlebig sind.(Kim et al., 2005) Das Fehlen morphologischer Merkmale und spezifischer Zellmarker sowohl auf der Oberfläche, als auch im Zytoplasma, macht es schwierig adulte Stammzellen auf direktem Weg nachzuweisen.(Gargett, 2007, Simons and Clevers, 2011, Bongso and Richards, 2004, Shostak, 2006) Daher müssen adulte Stammzellen mittels ihrer charakteristischen funktionellen Eigenschaften auffindig gemacht werden. Dazu zählen ihre Fähigkeit zur Regenerartion, Differenzierung und ihr proliferatives Potenzial.(Potten and Loeffler, 1990, Gargett, 2007, Morrison et al., 1997) In dem man

nun Zellen mit diesen Eigenschaften findet, hat man einen indirekten Beweis für die Existenz endometrialer Stammzellen. Die Marker, die in dieser Arbeit verwendet wurden, um Stammzeleigenschaften nachzuweisen, sind Musashi 1, KLF4, Oct-3/4, NOTCH1 und Nanog.

1.3 Ziel der Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist es, einen Beitrag zur Aufklärung der Ätiologie von Endometriose zu leisten. Insbesondere soll die Transplantationstheorie überprüft werden. Da diese das Vorkommen von Stammzellen in den Endometrioseläsionen postuliert, wurde in dieser Arbeit nach Zellen mit Stammzellcharakter in Endometrioseherden gesucht. Diese wurden durch die charakteristische Plastizität ihrer Oberflächenmoleküle (Antigene) mittels Antikörper in immunhistochemischen Färbungen ausfindig gemacht. Als Antikörper wurden Musashi 1, KLF4, Oct-3/4, NOTCH1 und Nanog gewählt. Die Analyse erfolgte in Abhängigkeit der Lokalisation der Herde. So wurde zwischen tief infiltrierendem und oberflächlichem Befall differenziert.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Material

2.1.1 Endometriose Präparate

Im Rahmen dieser wissenschaftlichen Studie wurden insgesamt 63 Paraffingewebebeobungen von operativ entfernten Endometriose Läsionen untersucht. Die Präparate stammen von Patientinnen die auf Grund einer Endometriose in der Universitätsfrauenklinik Düsseldorf im Zeitraum zwischen 1996-2016 behandelt wurden. Das Gewebe wurde unmittelbar nach der Entnahme in 4%iges gepuffertes Formalin gegeben und dann mit PBS-Puffer und 70%igem Alkohol weiterverarbeitet. Danach wurden die Gewebeprouben in Paraffin eingebettet und nach Standardfärbung untersucht. Die im Institut für Pathologie der Universitätsklinik Düsseldorf eingelagerten Paraffinblöcke wurden dankenswerterweise für diese Forschung zur Verfügung gestellt. Die Referenznummer des Ethikvotums lautet: 5824R, ID2016126295.

2.1.2 Pathologiebefunde Endometriose Präparate

Bei der Auswahl der insgesamt 63 Präparate wurde die ICD-10 Diagnose berücksichtigt, sodass dieser folgend, vier Untergruppen gebildet werden konnten:

- N80.1 Endometriose des Ovars
- N80.3 Endometriose des Beckenperitoneums
- N80.4 Endometriose des Septum rectovaginale und der Vagina
- N80.5 Endometriose des Darms

Der ersten Diagnosegruppe lassen sich 25 Gewebeprouben zuordnen. Mit den Diagnosen N80.3 und N80.5 wurden jeweils 16 Präparate untersucht und 6 Endometriose Läsionen waren am Septum rectovaginale und der Vagina lokalisiert.

Die Nummerierung der Präparate erfolgte nach der Anordnung auf den Objektträgern. So ergaben sich 13 Gruppen mit jeweils 5 Präparaten. Diese wurden zufällig und unabhängig von der Diagnose zusammengelegt, um die Bewertung und das Ergebnis nicht zu beeinflussen. Zudem konnte durch die Pseudonymisierung, die Unkenntnis der Identität der Patientinnen gewahrt werden.

Zwei gefärbte Präparate (Nummer 1.4 und 8.5) wurden aus der Wertung herausgenommen, da sie keine Endometrioseherde enthalten, sodass 63 statt 65 Schnitte ausgewertet wurden.

Im Anhang dieser Arbeit finden sich Tabellen, in denen alle verwendeten Präparate, auch jene, die für die Positivkontrollen verwendet wurden, aufgeführt sind. Dort werden zudem die diagnostischen Befunde des pathologischen Instituts der Universitätsklinik Düsseldorf für die jeweiligen Gewebeprouben aufgeführt.

2.1.3 Antikörper

Für die immunhistochemischen Färbungen wurden folgende fünf Antikörper (AK) verwendet:

2.1.3.1 Musashi 1

Name: Anti-Musashi 1 / Msi1 antibody [EP1302] ab52865

Hersteller: abcam KO VALIDATED Recombinant RabMAb®

Art: Monoklonaler Kaninchen Antikörper

2.1.3.2 KLF4

Name: Anti-KLF4 antibody [56CT5.1.6] ab75486

Hersteller: abcam

Art: Monoklonaler Maus Antikörper

2.1.3.3 Oct-3/4

Name: Oct-3/4 [SEMGC]

Hersteller: BIO CARE MEDICAL

Art: Monoklonaler Maus Antikörper

2.1.3.4 NOTCH1

Name: Anti-Notch1 antibody [EP1238Y] (HRP)

Hersteller: abcam

Art: Monoklonaler Kaninchen Antikörper

2.1.3.5 Nanog

Name: Anti-Nanog antibody

Hersteller: abcam

Art: Polyklonaler Kaninchen Antikörper

2.2 Methoden

2.2.1 Anfertigung Objektträger

Zunächst wurden aus den Paraffinblöcken mit dem Mikrotom 4µm dicke Schnitte angefertigt und diese auf silanisierte Objektträger gezogen.

Die Objektträger wurden dann zum Trocknen über Nacht bei 58°C im Inkubator gelagert, um die Gewebeadhäsion zu fördern. Am nächsten Morgen wurde die Temperatur des Brutschanks dann für weitere 30min auf 100°C erhöht. Nach einer kurzen Abkühlphase konnten die Präparate im Anschluss weiterverarbeitet werden.

Für die HE-Färbung wurden zunächst die gesamten Schnitte einzelner Präparate auf je einen Objektträger platziert. Nachdem die Endometrioseläsionen in der darauffolgenden Mikroskopie lokalisiert und markiert wurden, konnten im Folgenden Sammelobjektträger gefertigt werden. Diese beinhalteten jeweils fünf kleinere Gewebeausschnitte der Region, in der sich die Endometrioseläsion befand. So konnte sichergestellt werden, dass nur der Bereich von größtem Interesse angefärbt wurde. Dadurch konnten zum einen die Materialkosten gering gehalten werden, da weniger Antikörperlösung benötigt wurde und zum anderen erhöhte sich die Vergleichbarkeit der Ergebnisse, da in einem Durchgang eine größere Gruppen unter denselben Bedingungen gefärbt werden konnte.

2.2.2 Hämalaun-Eosin-Färbung

Die Übersichts-Färbung der Präparate erfolgte nach Hämalaun-Eosin (HE). Zu Beginn wurden die Schnitte zur Entparaffinierung für jeweils 10min in zwei mit Xylol gefüllte Glasbehälter gestellt. Danach durchliefen sie für je 2min eine absteigende Ethanolreihe folgender Konzentrationen: 99,5%, 96%, 70%. (2x H₂O je 2 min) (Protokoll nach Yale).

Nun erfolgte die basophile Zellkern-Färbung mit Hämalaunlösung nach Mayer für 2min. Danach wurden die Schnitte für 3sec in Salzsäure getunkt. (HCl-Stammlösung: 20ml 25%ige HCl auf 1000ml 70%igen Alkohol, Arbeitslösung: 20ml Stammlösung auf 1000ml 70% Alkohol; Arbeitslösung kann für ca. 4 volle Ständer benutzt werden). Im Anschluss wurden die Schnitte mit Aqua destillata gespült und in fließendem Leitungswasser 10min lang gebläut. Für die Gegenfärbung wurde der Xanthin-Farbstoff Eosin G verwendet. Dieser färbt azidophile Strukturen wie z.B. Zytoplasma, Keratin und Erythrozyten rot. Die Eosin-Lösung wurde mit 80%igem Ethanol und 100%iger Essigsäure angesetzt, sodass eine Arbeitskonzentration von 0,25% Eosin entstand. Nach der zwei Minütigen Gegenfärbung wurden die Schnitte kurz in Aqua destillata gegeben. Daraufhin erfolgte die Aufhellung und Entwässerung mittels aufsteigender Ethanolreihe der Konzentrationen: 70%, 96%, 99,5%, welche mit dem erneuten Bad in Xylol für jeweils 2min endete. Zum Schluss wurden die Schnitte mit Eukitt und Deckgläschen eingedeckt.

Tabelle 1: Protokoll HE-Färbung

Arbeitsschritt	Reagenz	Zeit	Bedingungen	
Entparaffinierung	Xylol	10min	Raumtemperatur	
	Xylol	10min	Raumtemperatur	
Rehydrierung	99,5% EtOH	1min	Raumtemperatur	
	99,5% EtOH	1min	Raumtemperatur	
	96% EtOH	1min	Raumtemperatur	
	96% EtOH	1min	Raumtemperatur	
	70% EtOH	1min	Raumtemperatur	
	70% EtOH	1min	Raumtemperatur	
Färbung	Hämalaunlösung sauer nach Mayer	2min	Raumtemperatur	
	HCl Lösung 0,1%	3sec	Raumtemperatur	
	Aqua dest.	2min	Raumtemperatur	
	Fließendes Leitungswasser	10min	Raumtemperatur	
	Eosin G 0,25%	2min	Raumtemperatur	
	Aqua dest.	kurz	Raumtemperatur	
	Dehydrierung	70% EtOH	1min	Raumtemperatur
		70% EtOH	1min	Raumtemperatur
96% EtOH		1min	Raumtemperatur	
96% EtOH		1min	Raumtemperatur	
99,5% EtOH		1min	Raumtemperatur	
99,5% EtOH		1min	Raumtemperatur	
Xylol		2min	Raumtemperatur	
Xylol		2min	Raumtemperatur	
Eindecken	Eukitt		Raumtemperatur	

2.2.3 Immunhistochemie nach LSAB

Die Immunhistochemie (IHC) wurde nach LSAB Methode (Labelled Strept Avidin Biotin Methode) angefertigt (Stand August 2003 im Life Science Center der Universitätsfrauenklinik Düsseldorf).

Auch hier wurden die Schnitte zu Beginn mit Xylol für mindst. 15min entparaffiniert. Gefolgt von einer Rehydrierung mittels absteigender Ethanolreihe der Konzentrationen 99,5%, 96%, 70%. Nachdem nun mit Leitungswasser gespült worden war, konnte die Hintergrundfärbung mit 3% Wasserstoffperoxid (H₂O₂) in der Verdünnung 1:10 für 30min erfolgen. Im Anschluss wurde erneut mit reichlich Leitungswasser gespült.

Die Hitze-induzierte Epitop-Antigenrückgewinnung fand mittels Schnellkochtopfmethode statt (etabliert seit dem 23.08.2001 im Life Science Center der Universitätsfrauenklinik Düsseldorf). Dieser Vorgang ist für die immunhistochemische Färbung von Bedeutung, da es durch die Fixierung in Formalin zu einer Epitopmaskierung kommt und die Antigen-Antikörper-Bindung reduziert würde. Dadurch könnten bei mangelnder Antigenrückgewinnung zu schwache oder falsch negative Färbungen entstehen.

Für das Verfahren wurde 1500ml Citratpuffer in der Verdünnung 150:1500 angesetzt. Um die Bedingungen auszugleichen wurden immer drei Ständer mit Objektträgern in den Kochtopf gestellt. Zunächst wurde die Flüssigkeit auf höchster Stufe zum Kochen gebracht, erst dann wurden die Schnitte hineingestellt und die Kochplatte wurde auf die dritte Stufe gestellt. Der Deckel wurde geschlossen und auf die erste Ventilstufe gestellt. Sobald der Druckanzeiger erschienen ist, wurde der Timer auf 15min eingestellt. Nach dieser Zeit wurde der Topf von der Platte genommen und 5min lang bei Raumtemperatur zum Abkühlen stehen gelassen. Erst dann wurde der Topf geöffnet und der Citratpuffer mit Leitungswasser geflutet.

Nachdem die Schnitte auf Raumtemperatur abgekühlt waren, erfolgte die Pronasevorbehandlung für 7min in 0,13%iger Pronase E (in TRIS-Puffer). Im Anschluss wurden die Präparate mit Leitungswasser sowie Triton-A.dest gespült.

Bei der LSAB-Methode wird Avidin genutzt, das bereits an ein Enzym gebunden ist (labelled avidin). Dieses wurde aus zwei Hühnereiweiß gewonnen, die mit 200ml Aqua destillata gemischt wurden. Für 15min wurde das Avidin mit den Gewebeproben in Verbindung gebracht. Avidin hat vier Bindungsstellen und eine hohe Affinität für Biotin. Im nächsten Schritt erfolgt diese Bindung, da die Objektträger, nachdem sie mit Leitungswasser gespült wurden, für 15min in ein Biotin-Gemisch gestellt wurden. Der große Komplex, zudem Avidin mit Biotin fusioniert, sorgt für eine deutliche Signalverstärkung bei der späteren Antikörper-Epitop-Reaktion. Das Avidin-Biotin-Enzymkonjugat entsteht in einem TBS-Puffer (9g NaCl (Pulver) auf 100ml TRIS ad 1000ml Aqua dest.), der durch seinen pH-Wert die Bindungseigenschaften positiv beeinflusst. Nun wurde erneut mit Leitungswasser gespült. Im Anschluss wurden die einzelnen Gewebeproben auf den Objektträgern mit Liquid Blocker umkreist, um im folgenden Antikörper zu sparen.

Nach einer Spülung mit Triton-Aqua dest., wurde nun der spezifische Primärantikörper (30µl pro Schnitt) aufgebracht und für 30min in einer feuchten Kammer belassen. Der Antikörper wurde mit Dako Antibody Diluent in vorher getesteter Konzentration verdünnt. Auf die Negativkontrollen wurde statt des Primärantikörpers Leitungswasser aufgetragen.

Bei dem Primärantikörper handelt es sich um den Antikörper, der spezifisch gegen das ausgewählte Epitop gerichtet ist und an dieses mit hoher Affinität bindet. In diesem Fall wurden in vorherigen Testreihen verschiedene Antikörper auf die Reaktion mit Endometriumspezifischen Antigenen getestet. Zum Einsatz gekommen sind Musashi1, KLF4, Oct-3/4, NOTCH1 und Nanog (siehe auch Abschnitt 2.1.4 Antikörper).

Nach der Bindung wurde erneut mit Leitungswasser und Triton-Aqua dest. gespült. Im Anschluss wurde ein biotinylierter Sekundärantikörper für 15min verwendet. Der Biotin konjugierte Sekundärantikörper ist gegen den Primärantikörper gerichtet und löst durch eine Enzym-Substrat-Reaktion die Farbentstehung aus. Danach wurde wieder mit Leitungswasser gespült.

15min Tertiärreagenz bei RT (OTs liegend) (ScyTek ABL999) Bei der Drei-Schritt-Methode wird ein weiterer Antikörper hinzugegeben, der auch ein Enzym gekoppelt ist – das Tertiärreagenz. Dieser bindet an den Sekundärantikörper und dient der Signalverstärkung. Durch die Aufsummierung von Enzymen kommt es zur Signalverstärkung. So lassen sich auch geringe Epitopmengen detektieren. Nach 15min Reaktionszeit wurde erneut mit Leitungswasser und Triton-Aqua dest. gespült.

Nun wurden die Gewebe exakt für 7min mit Diaminobenzidin bedeckt. Die Farbreaktion entsteht durch die Umsetzung des Diaminobenzidin-Farbkomplexes wenige Minuten nach dem Auftragen. Hierbei wird ein Farbsubstrat umgesetzt. Dabei färben sich die gesuchten Antigen-Strukturen, die eine Verbindung mit den angewandten Primärantikörpern eingehen, bräunlich. Die Gegenfärbung erfolgte mit Hämalan (Bläuen). Nach der Gegenfärbung wurden die Schnitte kurz in Aqua destillata gegeben. Daraufhin erfolgte die Aufhellung und Entwässerung mittels aufsteigender Ethanolreihe der Konzentrationen: 70%, 96%, 99,5%, welche mit dem Bad in Xylol für jeweils 2min endete. Zum Schluss wurden die Schnitte mit Eukitt und Deckgläsern eingedeckt.

Tabelle 2: Protokoll IHC nach LSAB

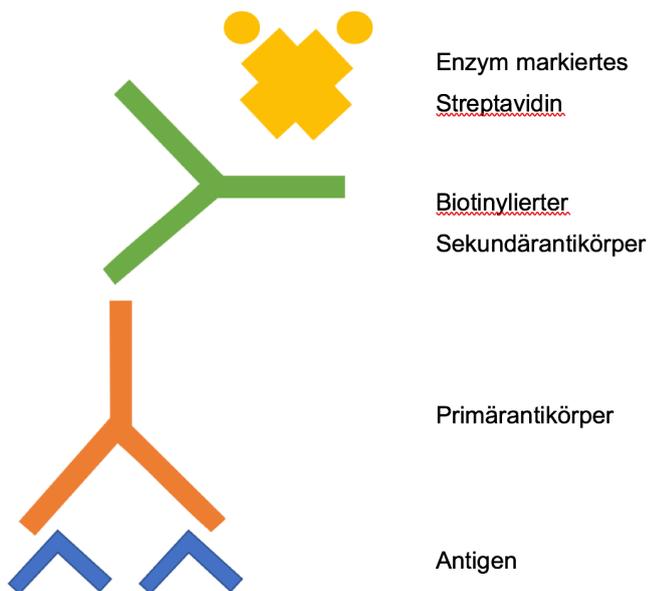
Arbeitsschritt	Reagenz	Zeit	Bedingungen
Entparaffinierung	Xylol	10min	Raumtemperatur
	Xylol	10min	Raumtemperatur
Rehydrierung	99,5% EtOH	1min	Raumtemperatur
	99,5% EtOH	1min	Raumtemperatur

	96% EtOH	1min	Raumtemperatur
	96% EtOH	1min	Raumtemperatur
	70% EtOH	1min	Raumtemperatur
	70% EtOH	1min	Raumtemperatur
Hintergrundfärbung	3% H ₂ O ₂ Verdünnung 1:10	30min	Raumtemperatur
Hitze-induzierte Epitoprückgewinnung	Schnellkochtopf in Citratpuffer 150:1500	15min	Kochender Citratpuffer pH6: 21g Citronensäure (C ₆ H ₈ O ₇ xH ₂ O) (Merck Best.Nr. 242) 25ml NaOH (2mol) (R.d.H. Best.Nr. 38212) ad 1 Lister Aqua dest. Stammlösung 1:10 (150ml + 1350ml)
	Leitungswasser fluten		Raumtemperatur
Pronasevorbehandlung	0,13%iger Pronase E (in TRIS-Puffer → 0,02g in 15ml TRIS)	7min	Raumtemperatur
	Spülen mit Leitungswasser		Raumtemperatur
	Spülen mit Triton-Aqua dest.		Raumtemperatur
Signalverstärkung	Avidin	15min	Raumtemperatur, 2 Eiweiß auf 200ml Aqua dest.
	Spülen mit Leitungswasser		Raumtemperatur
Signalverstärkung	Biotin	15min	Raumtemperatur, Biotin (0,02% d- Biotin in TBS- Puffer*) (Sigma Best.Nr. 4501) (5

			Tage haltbar) → 0,02g auf 100ml → 20mg auf 100ml → 40mg Bioton auf 200ml TBS- Spülpuffer *TBS-Puffer: 9g NaCl (Pulver) auf 100ml TRIS ad 1000ml Aqua dest.
	Spülen mit Leitungswasser		Raumtemperatur
	Kreise mit Liquid Blocker malen		Raumtemperatur
	Triton-A.dest. spülen		Raumtemperatur, (0,03% Triton X- 100) (Merck Best.Nr. 8603) 150µl + 500ml Aqua dest.
Antikörper-Antigen- Reaktion	Primärantikörper	30min	Raumtemperatur, feuchte Kammer, 30µl pro Schnitt (OTs liegend), auf alle außer Negativkontrolle (dort Wasser) (AK + Dako Antibody Diluent (Verdünnung je nach gewünschter Konzentration)
	Spülen mit Leitungswasser		Raumtemperatur
	Spülen mit Triton-Aqua dest.		Raumtemperatur
Signalverstärkung	Sekundärantikörper	15min	Raumtemperatur, feuchte Kammer (OTs liegend) (ScyTek ABN999)

			Polykl. für Maus, Kaninchen, Ratte, Meerschweinchen, Ziege
	Spülen mit Leitungswasser		Raumtemperatur
Signalverstärkung	Tertiärreagenz	15min	Raumtemperatur, feuchte Kammer (OTs liegend) (ScyTek ABL999)
	Spülen mit Leitungswasser		Raumtemperatur
	Spülen mit Triton-Aqua dest.		Raumtemperatur
Antigen-Färbung	Diaminobenzidin	exakt 7min	Raumtemperatur, feuchte Kammer (OTs liegend) (ScyTek ACK999) 50µl DAB + 1ml Substrat
	Spülen mit Leitungswasser		Raumtemperatur
Gegenfärbung	Hämalaun	5sec	Raumtemperatur
	Bläuen in Leitungswasser	20sec	Raumtemperatur
	Spülen mit Leitungswasser		Raumtemperatur
Dehydrierung	70% EtOH	1min	Raumtemperatur
	70% EtOH	1min	Raumtemperatur
	96% EtOH	1min	Raumtemperatur
	96% EtOH	1min	Raumtemperatur
	99,5% EtOH	1min	Raumtemperatur
	99,5% EtOH	1min	Raumtemperatur
	Xylol	2min	Raumtemperatur
Eindecken	Eukitt		Raumtemperatur

Abb. 1: Schematische Darstellung der IHC nach LSAB



2.2.4 Auswertung mittels Score

Die Auswertung der immunhistochemisch gefärbten Schnittpräparate erfolgte qualitativ und semiquantitativ in der Lichtmikroskopie. Anhand eines eigens hierfür entwickelten Scores wurden verschiedene Kriterien der Färbung beurteilt. Zum einen wie groß der Anteil an positiv gefärbten Zellen in Prozent war und zum anderen wie stark die Intensität der Färbung in vier Kategorien war. Im Anschluss wurde das Produkt der beiden Kriterien gebildet.

Abb. 2: IRS Score

A: Percentage of positive cells (Anteil)

0	0
1	<10%
2	<50%
3	<80%
4	>80%

B: Staining intensity (Intensität)

0	no colour reaction
1	mild reaction
2	moderate reaction
3	intense reaction

Final IRS Score (AxB)

0-1 negative

2-3 mild

4-8 moderate

9-12 strongly positive

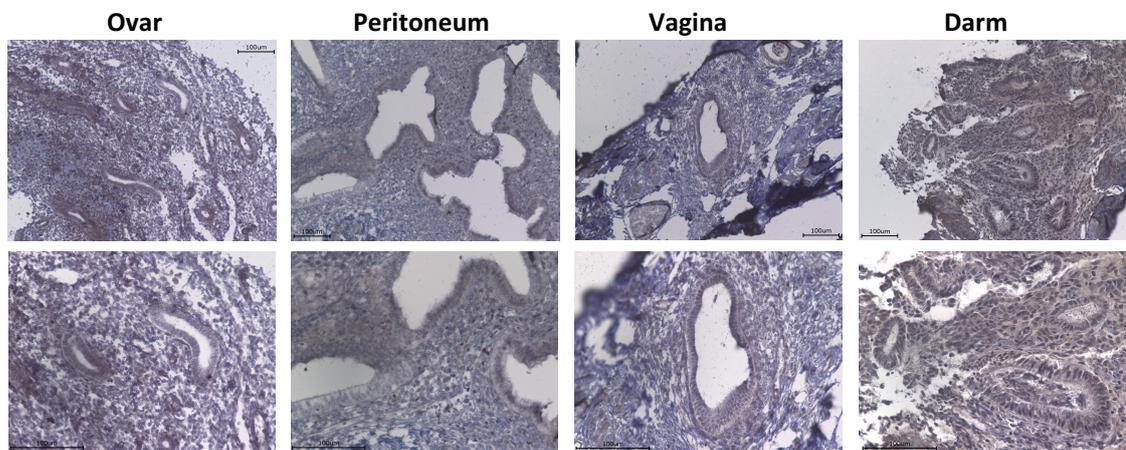
Diese Daten wurden für jedes Präparat in jeder Färbung durch die Doktorandin sowie eine unabhängige verblindete Zweitgutachterin (Fachärztin für Gynäkologie und Geburtshilfe - Dr. med. Vera Hepp) erhoben.

3 ERGEBNISSE

3.1 Repräsentative Fotos der Färbungen

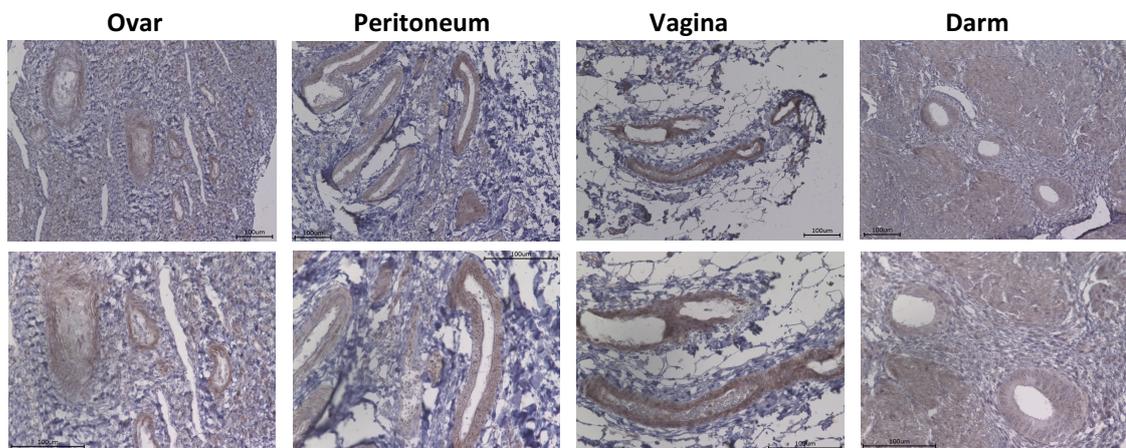
Im Folgenden werden fotografischen Aufnahmen aufgeführt, die während der Lichtmikroskopie entstanden sind. Dargestellt sind repräsentative Färbungen je eines Organs für jeden verwendeten Antikörper. Die Ausschnitte werden in zwei unterschiedlichen Vergrößerungen gezeigt (20- und 40-fach), um sowohl einen Überblick als auch einen detaillierten Ausschnitt zu ermöglichen. Auf den Fotos sind deutlich die Anfärbung aller jeweils verwendeten Antikörper in den Endometriose Läsionen zu erkennen.

Abb. 3: **Fotos der Lichtmikroskopie von den mit Oct-4/3 gefärbten Präparaten** in den Organen Ovar, Peritoneum, Vagina und Darm. Vergrößerungen jeweils 20- und 40-fach



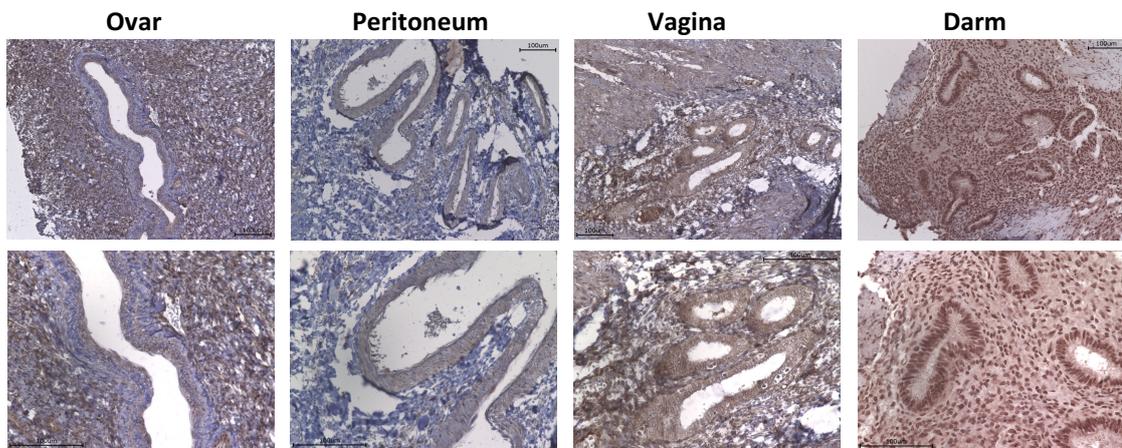
Oct-3/4

Abb. 4: **Fotos der Lichtmikroskopie von den mit Notch-1 gefärbten Präparaten** in den Organen Ovar, Peritoneum, Vagina und Darm. Vergrößerungen jeweils 20- und 40-fach



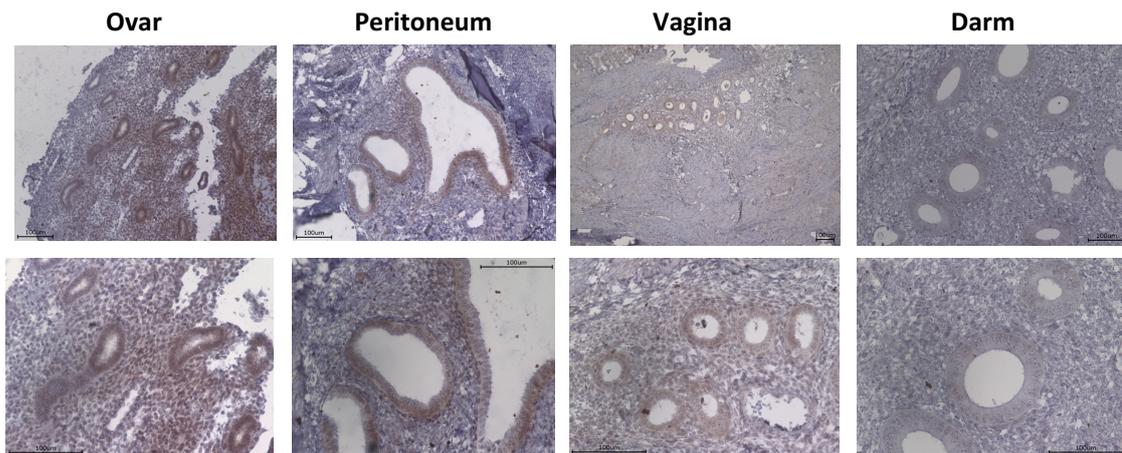
Notch-1

Abb. 5: **Fotos der Lichtmikroskopie von den mit Nanog gefärbten Präparaten** in den Organen Ovar, Peritoneum, Vagina und Darm. Vergrößerungen jeweils 20- und 40-fach



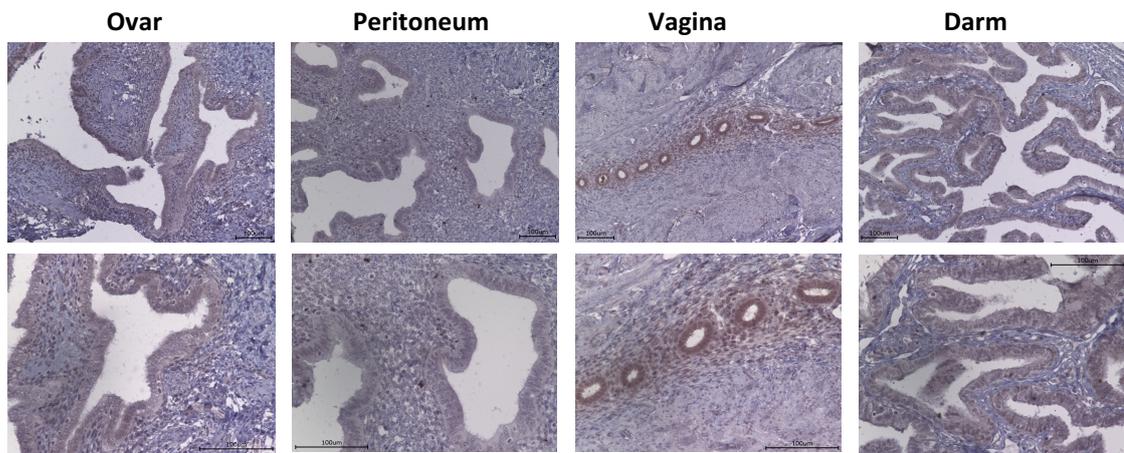
Nanog

Abb. 6: **Fotos der Lichtmikroskopie von den mit Musashi-1 gefärbten Präparaten** in den Organen Ovar, Peritoneum, Vagina und Darm. Vergrößerungen jeweils 20- und 40-fach



Musashi-1

Abb. 7: Fotos der Lichtmikroskopie von den mit KLF4 gefärbten Präparaten in den Organen Ovar, Peritoneum, Vagina und Darm. Vergrößerungen jeweils 20- und 40-fach



KLF4

3.2 Ergebnisse des IRS Scores

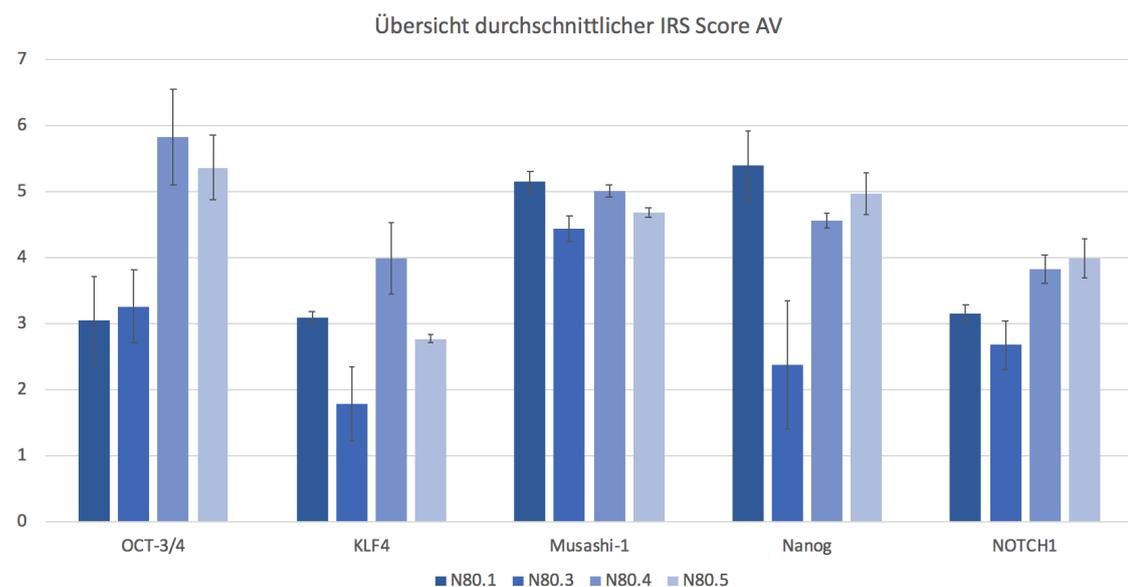
Die Beurteilung der immunhistochemisch gefärbten Schnittpräparate erfolgte mittels eines eigens hierfür entwickelten Scores. Hierbei wurden verschiedene Kriterien der Färbung beurteilt. Zum einen wie groß der Anteil an positiv gefärbten Zellen in Prozent war und zum anderen wie stark die Intensität der Färbung in vier Kategorien war. Im Anschluss wurde das Produkt der beiden Kriterien gebildet. Die Färbungen wurden sowohl von der Doktorandin Anna Henn (A), als auch von der Zweitauswerterin Dr. med. Vera Hepp (V) bewertet. Aus beiden Auswertungen wurden der Durchschnitt der vergebenen IRS Scores berechnet (AV).

Die folgende Tabelle und das dazugehörige Balkendiagramm geben eine Übersicht über die Ergebnisse dieses IRS Scores (AV). Die Beurteilung der unterschiedlich lokalisierten Endometriosepräparate, gruppiert nach den ICD-10 Diagnosen, erfolgte für jeden der verwendeten Antikörper.

Tabelle 3: Ergebnisse durchschnittlicher IRS Score (AV)

Antikörper	Präparate gruppiert nach ICD Diagnose			
	N80.1	N80.3	N80.4	N80.5
OCT-3/4	3,06	3,27	5,83	5,37
KLF4	3,1	1,79	4	2,78
Musashi-1	5,15	4,44	5,01	4,69
Nanog	5,4	2,39	4,57	4,97
NOTCH1	3,15	2,68	3,83	4

Abb. 8: Balkendiagramm Übersicht durchschnittlicher IRS Score (AV) mit Standardabweichung



3.3 Statistische Auswertung des IRS Scores

In diesem Kapitel werden die statistischen Ergebnisse und deren Interpretation vorgestellt. Die komplette statistische Auswertung mit den Rechenwegen, Tabellen und Grafiken findet sich im Anhang.

Alle Daten wurden mit dem Programm IBM SPSS Statistics Version 26 für Windows analysiert.

Legende Abkürzungen:

Auswertung A / Final Score A = Bewertung der Färbungen durch Doktorandin Anna Henn

Auswertung V / Final Score V = Bewertung der Färbungen durch Zweitauswerterin (Fachärztin für Gynäkologie und Geburtshilfe - Dr. med. Vera Hepp)

Auswertung AV / Final Score AV = (Final Score A + Final Score V) / 2

3.3.1 Versuchsdesign

unabhängige Gruppen (between subject design) = Zwischensubjektvergleich

→ Eine Gruppe hat eine Gruppierungsvariable

Bedingung: Diagnose (N80.1, N80.3,...) = unabhängige Variable UV

Outcome: Final IRS Score (1, 2,...) = abhängige Variable AV

3.3.2 Skalenniveau

UV: Nominalskala; Aussage: Gleichheit

AV: Ordinalskala; Aussage: Rangfolge ; A=B, A≠B, A>B, A<B

AV ist nicht intervallskaliert, da zwischen den einzelnen Kategorien kein gleicher Abstand besteht ; d=A-B nicht möglich

AV ist zusammengesetzt aus AxB

A: Percentage of positive cells (Anteil)

0	0
1	<10%
2	<50%
3	<80%
4	>80%

→ Ordinalskala

B: Staining intensity (Intensität)

0	no colour reaction
1	mild reaction
2	moderate reaction

3 intense reaction

→ Ordinalskala

Final IRS Score (AxB)

0-1 negative

2-3 *mild*

4-8 moderate

9-12 strongly positive

→ Ordinalskala

3.3.3 Prüfung der Normalverteilungsannahme: Kolmogorov-Smirnov-Test* und Shapiro-Wilks- Test

*Signifikanzkorrektur nach Lilliefors

→ Interpretation: Signifikanz < 0.5 → es gibt einen signifikanten Unterschied zwischen der vorliegenden Verteilung und der Normalverteilung

→ Daten sind nicht normalverteilt, Normalverteilung wäre gegeben bei $p > 0.5$

3.3.4 Nullhypothese H0

Es gibt keinen Unterschied zwischen den verschiedenen von Endometriose betroffenen Organen hinsichtlich ihrer Stammzellmarker-Expression, welche durch die IHC Färbung nachgewiesen und mittels IRS Score objektiviert wurde.

3.3.5 Statistische Zusammenhänge: Spearman- Rangkorrelation

Bei den 304 bewerteten Final Scores in Auswertung A zeigte sich ein moderater signifikanter Zusammenhang zwischen der Tiefe der Infiltration und der Höhe des Final IRS Score; $r_s = .329$, $p < 0.01$ (2-seitig).

→ „Je tiefer infiltrierend, desto höher der Final IRS Score.“

Bei den 304 bewerteten Final Scores in Auswertung V zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Tiefe der Infiltration und der Höhe des Final IRS Score; $r_s = .0141$, $p = 0.014$ (2-seitig). Auf dem 0,05 Niveau ist die Korrelation signifikant, da $p = 0.014$ (zweiseitig). Auf diesem Signifikanz-Niveau zeigte sich ein schwacher Zusammenhang.

Beim Mittelwert der Final Scores A und V zeigte sich ein schwacher signifikanter Zusammenhang zwischen der Tiefe der Infiltration und der Höhe des Final IRS Score; $r_s = .281$, $p < 0.01$ (2-seitig).

→ „Je tiefer infiltrierend, desto höher der Final IRS Score.“

Zwischen den Ergebnissen der Auswertung A und der Auswertung V zeigte sich ein starker signifikanter Zusammenhang, $r_s = .528$, $p < 0.01$ (2-seitig).

→ Die Bewertungs-Ergebnisse zwischen den beiden Auswertern A und V korrelieren positiv miteinander.

3.3.6 Statistische Zusammenhänge: Chi-Quadrat-Test

Bericht von Chi-Quadrat-Tests: $X^2(„df“)$ = „Chi-Quadrat nach Pearson“, $p =$ „Asymptotische Signifikanz“

→ Auswertung A:

$X^2(12) = 37.571$, $p < 0.001$, Cramers $V = 0.196$, $\Phi = 0.340$

→ Auswertung AV:

$X^2(12) = 53.302$, $p < 0.001$, Cramers $V = 0.234$, $\Phi = 0.405$

Bei der Auswertung A gibt es einen schwachen signifikanten Zusammenhang zwischen dem betroffenen Organ und der Höhe des IRS Score in Klassen; $X^2(12) = 37.571$, $p < 0.001$, Cramers $V = 0.196$.

Wenn man $\Phi = 0.340$ als Effektstärkemaß verwendet, ist der Zusammenhang moderat signifikant.

→ „Der Anteil von Endometrioseläsionen mit einem hohen IRS-Score ist unter den Organen, die zur TIE zählen, signifikant größer, als unter den Organen, in denen keine TIE auftritt.“

Bei der Auswertung AV gibt es einen schwachen signifikanten Zusammenhang zwischen dem betroffenen Organ und der Höhe des IRS Score in Klassen; $X^2(12) = 53.302$, $p < 0.001$, Cramers $V = 0.234$.

Wenn man $\Phi = 0.405$ als Effektstärkemaß verwendet, ist der Zusammenhang moderat signifikant.

→ „Der Anteil von Endometrioseläsionen mit einem hohen IRS-Score ist unter den Organen, die zur TIE zählen, signifikant größer, als unter den Organen, in denen keine TIE auftritt.“

3.3.7 Mittelwertvergleiche: Mann-Whitney-U-Test

Bericht: $U =$ „Mann-Whitney-U“, $z =$ „Z“, $p =$ „Signifikanz (2-seitig)“

→ Auswertung A:

$U = 1389.00$ $z = -5.787$, $p < 0.001$ (2-seitig)

→ Auswertung V:

$U = 2288.00$ $z = -2.525$, $p = 0.012$ (2-seitig)

→ Auswertung AV:

$U = 1615.50$ $z = -4.899$, $p < 0.001$ (2-seitig)

In allen Auswertungen ist der mittlere Rang des IRS Scores beim Darm höher als beim Peritoneum. In den Auswertungen A und AV sind zudem die Rangsummen des Darms höher als die des Peritoneums. Zudem ist der Unterschied dort signifikant. Für die Ergebnisse der Auswertung V liegt keine Signifikanz vor, bei $p < 0.001$. Auf dem 0.05 Niveau liegt eine Signifikanz vor, da $p=0.012$ (zweiseitig).

3.3.8 Einfaktorielle Varianzanalysen: Kruskal Wallis Test

$X^2(„df“)$ = „Chi-Square“, p = „Asymp. Sig.“

→ Auswertung A:

$X^2(3) = 39.789$, $p < .001$

→ Auswertung V:

$X^2(3) = 13.539$, $p: .004/4 = .001$ (Bonferroni-Korrektur)

→ Auswertung AV:

$X^2(3) = 30.442$, $p < .001$

Es gibt einen signifikanten Unterschied zwischen verschiedenen Gruppen in den Auswertungen A, V und AV. Da jedoch noch unklar ist welchen, werden manuelle Paarvergleiche benötigt.

3.3.9 Paarvergleiche

In den Paarweisen Vergleichen der Auswertungen A, V und AV zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen den Vergleichen von Peritoneum (3) und jedem anderen Organ (1, 4, 5) bei einem Signifikanzniveau von .05. Daher wird die Nullhypothese, dass es keinen Unterschied gibt, abgelehnt.

In der Auswertung V zeigte sich im Vergleich 3—4 nach der Bonferroni-Korrektur keine Signifikanz mehr. Bei den anderen Vergleichen jedoch weiterhin auf einem Niveau von .05.

4 DISKUSSION

4.1 Bewertung des Materials

Im Rahmen dieser wissenschaftlichen Studie wurden Paraffingewebeprobe von operativ entfernten Endometriose Läsionen untersucht. Zwar sind die Proben in einem guten Zustand, doch aufgrund der vielfältigen Verarbeitungsschritte kam es potentiell zu Schäden am Gewebe und es wurde zudem für einige mögliche Untersuchungen unbrauchbar.

Angefangen bei der Gewinnung des Gewebes in einem operativen Eingriff. Um die Endometriose Läsionen zu entnehmen, müssen diese mit traumatischen Instrumenten gefasst werden. Dies hat zwangsläufig zur Folge, dass die Struktur und Morphologie des Gewebes teilweise beschädigt wird. Es kann zudem zu Einblutungen in das Präparat kommen, die sich in einer späteren Färbung als Hintergrundfärbung manifestieren und so zu falsch positiven Ergebnissen führen können. Eine weitere mögliche Schädigung entsteht durch die Bergung der Proben. Meist erfolgt ein chirurgischer Eingriff mit der Indikation „Endometriose“ laparoskopisch. Das bedeutet, alle Gewebeprobe werden durch einen Trokar oder einen kleinen Einschnitt per Bergebeutel geborgen. Durch die Kompression bei diesem Vorgang, kann auch hier eine Beschädigung des Materials erfolgen. Dies gilt insbesondere für größere Zysten vom Ovar.

Nach der Entnahme wurde das Gewebe unmittelbar in 4%iges gepuffertes Formalin gegeben und dann mit PBS-Puffer und 70%igem Alkohol weiterverarbeitet. Danach wurden die Gewebeprobe in Paraffin eingebettet und nach Standardfärbung durch die Pathologie untersucht. Diese Behandlung macht einige Untersuchungsmethoden im Labor unmöglich.

Bei der pathologischen Untersuchung der Gewebelöcke wurden Schnittpräparate angefertigt. So kann es dazu gekommen sein, dass kleine Endometriose Läsionen sich bereits in diesen Schnitten befanden und durch die Voruntersuchung entfernt wurden, sodass auf dem restlichen Gewebelöcke keine Läsion mehr zu erkennen ist. Bei den gefärbten Präparaten dieser Arbeit wurden zwei aus der Wertung herausgenommen, da sie keine Endometrioseherde enthalten. Die geringe verfügbare Menge an Gewebe führt dazu, dass nur eine begrenzte Anzahl an Färbungen möglich ist, sodass die Auswahl an Antikörpern eingeschränkt wurde.

Auch wäre es wünschenswert eine größere Menge an verschiedenen Gewebeprobe verwenden zu können, um in der statistischen Auswertung eine größere Signifikanz zu erzielen. Jedoch hätte eine größere Anzahl an Präparaten wiederum zum Nachteil, dass mehr Färbedurchgänge mit den jeweiligen Antikörpern nötig gewesen wären. Dies führt dazu, dass die unterschiedlichen Chargen nicht ideal miteinander vergleichbar sind, da sie unter minimal unterschiedlichen Bedingungen entstanden wären.

Die verwendeten Präparate für die Positivkontrollen wurden auch von der Pathologie zur Verfügung gestellt. Sie wurden in vorgeschalteten Versuchen auf ihre Reaktionsfähigkeit und Potenz als Positivkontrollen überprüft.

Auch die verwendeten Antikörper wurden zuvor in verschiedenen Experimenten gegen andere getestet und für diese wissenschaftliche Arbeit ausgewählt. Zudem wurden die nötigen Konzentrationen ermittelt. Für zukünftige wissenschaftliche Arbeiten wäre es interessant, noch weitere Antikörper zu färben und ihre Ausprägung zu ermitteln.

Ambivalent zu betrachten ist die anonymisierte Vorgehensweise bei dieser wissenschaftlichen Arbeit. Die Nummerierung der Blöcke erfolgte durch die Pathologie und wurde für diese Studie beibehalten. Dies wahrt zum einen die Unkenntnis der Identität der Patientinnen und zum Anderen konnte die Auswertung unabhängig von der Kenntnis der Anamnese und Klinik durchgeführt werden. So konnte ein Beurteilungsbias bei der Auswertung der Ergebnisse vermieden werden. Andererseits wäre es auch interessant, die Auswertung in Verbindung mit der Klinik vorzunehmen. So könnte man beispielsweise die Ausprägung der Marker mit der Symptomschwere oder mit der Zyklusphase korrelieren. Zudem könnte man berücksichtigen, ob es sich z.B. um eine Erstmanifestation oder ein Rezidiv handelt. Diese Hypothesen für weiterführende Untersuchungen sind möglicherweise in Zukunft anzuschließen.

4.2 Kritische Betrachtung der Methode

Die Immunhistochemie wurde nach LSAB Methode (Labelled Strept Avidin Biotin Methode) angefertigt. Diese Methode ist im Life Science Center der Universitätsfrauenklinik Düsseldorf gut erprobt und findet dort häufig Anwendung. Sie eignet sich besonders gut, um Formalin-fixiertes, in Paraffin eingebettetes Gewebe auf das Vorhandensein von Zellen mit Stammzellcharakter zu untersuchen. Diese wurden durch die charakteristische Plastizität ihrer Oberflächenmoleküle (Antigene) mittels Antikörper in der immunhistochemischen Färbung ausfindig gemacht. Die Protokolle der einzelnen Färbungen, zu denen neben der Immunhistochemie auch die Hämatoxylin-Eosin-Färbung zählt, ergaben sich aus verschiedenen Komponenten. Zum einen basieren die Methoden auf der Gebrauchsanleitung der verwendeten Materialien wie z.B. der Antikörper, zum anderen auf aktuellen wissenschaftlichen Publikationen. So wurde z.B. die HE-Färbung nach dem Schema der Universität Yale durchgeführt. Auch die Erkenntnisse aus vorausgeschalteten Versuchen und Experimenten wurden berücksichtigt.

Für die Färbungen wurden Sammelobjektträger angefertigt, um möglichst sparsam mit dem verfügbaren Gewebe umzugehen. So konnte sichergestellt werden, dass nur der Bereich von größtem Interesse angefärbt wurde. Dadurch konnten zum einen die Materialkosten gering gehalten werden, da weniger Antikörperlösung benötigt wurde und zum anderen erhöhte sich die Vergleichbarkeit der Ergebnisse, da in einem Durchgang eine größere Gruppen unter denselben Bedingungen gefärbt werden konnte.

Die Auswertung der immunhistochemisch gefärbten Schnittpräparate in der Lichtmikroskopie ist eine qualitative Bewertungsform. Das kann ein Nachteil dieser Methode sein, da die Vergleichbarkeit zu den Ergebnissen anderer wissenschaftlicher Arbeiten geringer ist, als bei quantitativen Methoden. Um eine semiquantitative Bewertung zu ermöglichen, wurde daher ein Score entwickelt. (Remmele and Stegner, 1987) Folgende Kriterien der Färbung wurden dadurch beurteilt: der Anteil an positiv gefärbten Zellen in Prozent und die Intensität der Färbung in vier Kategorien. Im Anschluss wurde das Produkt der beiden Kriterien gebildet.

Diese Daten wurden für jedes Präparat in jeder Färbung durch die Doktorandin sowie eine unabhängige verblindete Zweitgutachterin erhoben. Dadurch, dass die Doktorandin in kurzem Zeitraum alle Präparate selbst bewertet hat, ergibt sich eine hohe Intrarater-Reliabilität. Die Befundung durch die unabhängige Zweitgutachterin stellte sicher, dass eine gute Interrater-Reliabilität gewährleistet ist. Durch die Verblindung bei der Auswertung wurde einem Beurteilungsbias vorgebeugt.

Eine rein quantitative Auswertung könnte als Ergänzung in einer zukünftigen Arbeit erfolgen. Möglich wäre dies z.B. durch einen Immunoblot oder eine quantitative PCR.

4.3 Betrachtung der Ergebnisse

Ziel der Arbeit ist eine Detektion von Zellen mit Stammzellcharakter in Endometrioseherden. Die Analyse erfolgt zudem in Abhängigkeit der Lokalisation der Herde. So wird zwischen tief infiltrierendem und oberflächlichem Befall differenziert. Demnach ergeben sich zwei Arbeitshypothesen, die überprüft werden:

- Gibt es Zellen mit Stammzellcharakter in Endometriose Läsionen?
- Unterscheidet sich die Ausprägung der Zellen mit Stammzellcharakter abhängig von der Lokalisation der Läsion (oberflächlicher vs. tief infiltrierender Befall)?

In den fotografischen Aufnahmen, die von den Färbungen in der Lichtmikroskopie angefertigt wurden, sieht man deutlich die Anfärbung aller jeweils verwendeten Antikörper in den Endometriose Läsionen. Demnach kann die erste Hypothese eindeutig mit Ja beantwortet werden. Es gibt Zellen mit Stammzellcharakter in Endometriose Läsionen.

Um die zweite Hypothese beantworten zu können, wurde eine semiquantitative Auswertung mittels Score verwendet. So konnte eine bessere Vergleichbarkeit zwischen den einzelnen Ergebnissen der Färbungen erreicht werden. Die Ergebnisse der Bewertung durch den Score wurden dann statistisch ausgewertet.

In der Spearman Rangkorrelation zeigt sich bei den 304 bewerteten Final Scores je nach Auswerterin ein schwacher bzw. moderater signifikanter Zusammenhang zwischen der Tiefe der Infiltration und der Höhe des Final IRS Score. Demnach ist der Final IRS Score höher, je tiefer infiltrierend eine Läsion ist.

Zudem wurde mit der Spearman Rangkorrelation statistisch überprüft, ob eine gute Interrater-Reliabilität vorliegt. Es zeigt sich ein starker signifikanter Zusammenhang zwischen den Ergebnissen beider Auswertungen $r_s = .528$, $p < 0.01$ (2-seitig). Das bedeutet, die Bewertungs-Ergebnisse zwischen den beiden Auswerterinnen korrelieren positiv miteinander. Somit ist eine sehr gute Interrater-Reliabilität gegeben.

Die statistischen Zusammenhangsmaße wurden mittels Chi-Quadrat-Test berechnet. Hier zeigt sich bei den Auswertungen ein moderat signifikanter Zusammenhang zwischen dem betroffenen Organ und der Höhe des Scores in Klassen. Folglich ist der Anteil von Endometrioseläsionen mit einem hohen IRS-Score unter den Organen, die zur TIE zählen (Darm und Vagina), signifikant größer, als unter den Organen, in denen keine TIE auftritt.

Des Weiteren wurde Mittelwertvergleiche (Mann-Whitney-U-Test) zwischen den Werten des „Peritoneums“ (oberflächlicher Befall) und des „Darms“ (tief infiltrierend) angefertigt. Daraus ergeben sich folgende Erkenntnisse:

In allen Auswertungen ist der mittlere Rang des IRS Scores beim „Darm“ höher als beim „Peritoneum“. Zudem sind die Rangsummen des „Darms“ höher als die des „Peritoneums“ ($p .05$). Also sind die mittleren Ränge bei den unabhängigen Gruppen „Darm“ und Peritoneum“ verschieden. Anhand der höheren Rangsumme bei der

Gruppe „Darm“ sieht man, dass hier höhere Werte vorliegen, als in der Gruppe „Peritoneum“. Daraus lässt sich schließen, dass die Färbung des Organs „Darm“, welches eine tiefinfiltrierende Lokalisation repräsentiert, in ihrer Ausprägung (siehe IRS Score) stärker ist, als beim „Peritoneum“, welches für den oberflächlichen Befall steht.

Bei der einfaktoriellen Varianzanalyse (Kruskal Wallis Test) wurde festgestellt, dass es einen signifikanten Unterschied zwischen den verschiedenen Gruppen in allen Auswertungen gibt. Um zu ermitteln welchen, wurden manuelle Paarvergleiche erstellt.

In den Paarweisen Vergleichen aller Auswertungen zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen den Vergleichen von der Gruppe „Peritoneum“ und jedem anderen Organ. Somit wird die Nullhypothese, dass es keinen Unterschied gibt, abgelehnt.

In der Auswertung der Zweitgutachterin zeigte sich im Vergleich „Peritoneum“ und „Vagina“ nach der Bonferroni-Korrektur keine Signifikanz mehr. Bei den anderen Vergleichen jedoch weiterhin auf einem Niveau von .05. Somit kann man sagen, dass es fast in allen Gruppen einen signifikanten Unterschied bei der Ausprägung der gefärbten Antikörper gibt, wenn man ein Organ, das den tief infiltrierenden Befall vertritt, mit dem Peritoneum vergleicht, welches den oberflächlichen Befall repräsentiert.

In Betrachtung aller statistischer Ergebnisse kann man zusammenfassend die zweite Hypothese „Unterscheidet sich die Ausprägung der Zellen mit Stammzellcharakter abhängig von der Lokalisation der Läsion (oberflächlicher versus tief infiltrierender Befall)?“ bestätigen. Darüber hinaus lässt sich feststellen, dass die Ausprägung der Zellen mit Stammzellcharakter in tief infiltrierenden Läsionen größer ist, als bei solchen, die als oberflächliche Herde gelten.

4.4 Überprüfung der Theorien und Schlussfolgerung

Ziel dieser Arbeit ist es, einen Beitrag zur Aufklärung der Ätiologie von Endometriose zu leisten. Diese wird seit der wissenschaftlichen Erstbeschreibung durch Rokitansky im Jahre 1860, kontrovers diskutiert. Einige Theorien fanden dabei vermehrt Anklang, die im Folgenden überprüft werden.

Die wahrscheinlich anerkannteste ist die Implantationstheorie nach Sampson, welche besagt, dass endometriales Gewebe während der retrograden Menstruation über die Tuben in den Bauchraum gelangt und sich dort implantieren kann.(Sampson, 1927) Aufgrund von Krämpfen der Uterusmuskulatur kommt es zum Herauslösen einzelner Zellen, die dann verschleppt werden. Für diese Theorie spricht, dass bei Patientinnen mit Endometriose eine höhere Aktivität der Uterusmuskulatur festgestellt wurde, als bei einer gesunden Kontrollgruppe.(Salamanca and Beltran, 1995) Zudem war die Menge an Menstruationsblut, das in den Bauchraum gelangt ist, größer und beinhaltete mehr Gewebestücke des dislozierten Endometrium.(Halme et al., 1984) Auch eine Abflussbehinderung des Menstruationsbluts über die Zervix stellt einen Risikofaktor für die Entstehung von Endometriose dar.(Nunley and Kitchin, 1980) Im Tierexperiment mit Pavianen, konnte eine Endometriose durch Ligatur der Zervix uteri provoziert werden.(D'Hooghe, 1997) Die Abflussbehinderung hat womöglich zur Folge, dass sich das Blut stattdessen seinen Weg über die Tuben in den Bauchraum bahnt.

Gegen die Implantationstheorie spricht allerdings die Tatsache, dass 76-90% aller Frauen zum Teil auch retrograd menstruieren(Burney and Giudice, 2012) und dennoch lediglich 6-10% eine Endometriose aufweisen(Kiechle, 2006, Breckwoldt M., 2007). Auch Frauen, die nie eine Menstruation hatten, können von Endometriose betroffen sein. Des Weiteren lassen sich die verschiedenen extragenitalen Lokalisationen (z.B. Lunge oder Gehirn) schwierig durch die retrograde Menstruationstheorie erklären. Sogar bei Männern, die aufgrund eines Prostatakarzinoms hochdosiert mit Östrogen behandelt wurden, konnte in seltenen Fällen Endometriose nachgewiesen werden.(Rei et al., 2018) Und auch bei Patientinnen die sich einer radikalen Hysterektomie sowie Adnexektomie unterzogen haben, kommt es in manchen Fällen zu einem späteren Zeitpunkt wieder zum Rediziv.(Rizk et al., 2014) All diese Fälle sprechen gegen die retrograde Menstruationstheorie.

Eine Verschleppung von dislozierten Endometriumzellen ist nicht nur über die Tuben denkbar, sondern auch über die Blutbahn oder die Lymphwege. Diese hämatogene oder lymphogene Streuung würde dem Ausbreitungsmuster von Metastasen bei Malignomen ähneln.(Levander and Normann, 1955) Zwar ist die Endometriose eine Erkrankung benignen Genese, jedoch weist sie einige Merkmale eines malignen Phänotyps auf: Multifokalität, intravasale Nachweisbarkeit und Fernabsiedlungen. Zudem sind pro-inflammatorische und pro-angiogene Faktoren sowohl beim Tumorwachstum, als auch in Endometrioseherden nachweisbar(Noble et al., 1997,

Vodolazkaia et al., 2016). Äußerst selten kommt es zu einer malignen Entartung der Endometrioseherde. Aus einem Endometriom kann so ein Ovarialkarzinom entstehen. Es sind endometriode, klarzellige und low-grade seröse Ovarialkarzinome im Zusammenhang mit Endometriose beschrieben.(Pearce et al., 2012, Wilbur et al., 2017, Bassiouny et al., 2019) Patientinnen mit Endometriose haben ein 1,3 bis 4-fach höheres Erkrankungsrisiko für ein Ovarialkarzinom.(Somigliana et al., 2006, Kim et al., 2014, Zafrakas et al., 2014) Und auch das endometriode Adenokarzinom des eutopen Endometriums zeigt sich in populationsbezogenen Studien bei Patientinnen mit Endometriose häufiger.(Kok et al., 2015, Habiba et al., 2018) Zwar kann man bei der Endometriose nicht von einer prämaligen Läsion sprechen, jedoch stellt sich die Frage, wodurch das Entartungspotenzial bedingt ist.

Die Metaplasietheorie beruht auf der Annahme, dass Endometrioseherde aus pluripotem Zölomepithel entstehen, indem dieses sich unter Östrogeneinfluss in Müller-Gangepithel umwandelt.(Meyer, 1919) Grundlage dieser Idee ist die Beobachtung, dass das Endometrium entwicklungs geschichtlich aus demselben Gewebe hervorgeht wie das Peritoneum, nämlich aus dem Mesoderm, genauer gesagt dem Zölomepithel. Die Induktionshypothese, besagt, dass die retrograde Menstruation ein Stimulus für die Metaplasie des Mesothels sein könnte. Jedoch belegen embryologische Studien, dass kein Müller-Gangepithel an Stellen wie dem Colon sigmoideum, dem Blinddarm oder weiter entfernt am Zwerchfell oder der Pleura zu finden sind.(Signorile et al., 2009) Das Auftreten von Läsionen an diesen Organen ist also schwierig mit der Metaplasietheorie zu erklären. Außerdem wäre ein häufigeres Auftreten bei Männern zu erwarten, falls es sich bei der Manifestation von Endometriose lediglich um eine metaplastische Umwandlung handeln würde.

Auch für eine genetische Komponente bei der Pathogenese sprechen einige Argumente. So führten beispielsweise Studien, das Risiko an Endometriose zu erkranken, zu 51% auf genetische Faktoren zurück.(Kiechle, 2006) Bei Verwandten 1. Grades einer betroffenen Patientin ist die Wahrscheinlichkeit an Endometriose zu erkranken erhöht und auch das Rezidivrisiko für alle Verwandten ersten Grades liegt bei 6,9%(Simpson et al., 1980). Epidemiologische Studien deuten auf eine multifaktorielle polygenetische Vererbung hin, wobei bislang keine konkreten Genloki ausfindig gemacht werden konnten. Es gibt jedoch einige Kandidatengene mit potenzieller Plausibilität.(Kennedy et al., 2001, Bischoff and Simpson, 2000, Simpson and Bischoff, 2002) Die bisherigen Studien konnten jedoch keines dieser Gene mit Sicherheit der Pathogenese zuordnen. Die meisten von ihnen untersuchen zu kleine Stichproben, für eine ausreichende Aussagekraft.(Montgomery et al., 2008, Zondervan et al., 2002) Unter den Kandidatengenen sind Tumorsuppressorgene, die wieder auf eine Parallele zu malignen Tumorerkrankungen hindeuten könnten. Auch einige Gene, die für entgiftende Enzyme transkribieren, sind potenziell für die Entstehung der Endometriose verantwortlich. Dies deckt sich mit der Beobachtung, dass der Einfluss von Schadstoffen wie z.B. Polychlorierte Biphenyle, Bisphenol A und Phtalate die Entstehung der Erkrankung fördert.(Parazzini et al., 2017, Roy et al., 2015)

Vielleicht handelt es sich auch um eine epigenetische Vererbung, bei der unterschiedliche Umwelteinflussfaktoren eine Rolle spielen. In asiatischen Populationen zeigt sich im Vergleich zu kaukasischen häufiger ein Zusammenhang mit Genvariationen, was auf eine wichtige Rolle von Gen-Polymorphismen in der Ätiologie hinweist.(Lao et al., 2016, Pabalan et al., 2017, Pagliardini et al., 2015, Xin et al., 2015, Yang et al., 2016, Yi et al., 2016)

Falls es sich bei der Endometriose um eine genetische Erkrankung handelt, könnte das starke Auswirkungen auf die Diagnostik und Therapie haben. Falls sich ein Gen lokalisieren ließe, könnte man beispielsweise in betroffenen Familien ähnlich wie bei einer BRCA-Mutation, eine genetische Beratung durchführen. Auch wären genetische Marker im Blut für eine nicht invasive und sichere Diagnosestellung sehr hilfreich.(Parasar et al., 2017) Therapeutisch könnten Verfahren wie CRISPR-Cas dazu genutzt werden, betroffene Gene zu reparieren/ersetzen und so womöglich eine komplette Heilung der Endometriose bewirken.

Eine weitere ätiopathologische Erklärung ist die Beteiligung des Immunsystems bei der Krankheitsentstehung. Zum Beispiel könnte eine Funktionsstörung der natürlichen Killerzellen dazu führen, dass die Phagozytose von ektopen Zellen vermindert erfolgt und diese so die Chance bekommen, sich anzusiedeln. Zu einem unzureichenden Abbau kann es auch dadurch kommen, dass zu viele ektote Zellen (z.B. bei ausgeprägter retrograder Menstruation) das System der natürlichen Killerzellen überlasten und so das „Reinigungssystem“ überfordern.(Haney et al., 1981, Hill et al., 1988, Jones et al., 1998, Darrow et al., 1993, Vercellini et al., 1997) Die Makrophagen selbst wiederum regen durch die Sekretion von pro-inflammatorischen Zytokinen und Wachstumsfaktoren die Proliferation von endometrialen Zellen im Bauchraum an. Diese sind z.B. der Tumornekrosefaktor-alpha (TNF-a) und Interleukin-1beta (IL-1b).(Noble et al., 1996, Agic et al., 2009) Dass Zytokine eine wichtige Komponente darstellen, verdeutlichen Studien, die multiple immunologische Veränderungen in der Peritonealflüssigkeit und im Peritoneum von Endometriosepatientinnen gegenüber einer Kontrollgruppe nachweisen konnten.(Symons et al., 2018) Allerdings haben manche extragenitale Herde gar keinen Kontakt zur Peritonealflüssigkeit und es wurde auch eher eine negative Korrelation (umgekehrt proportional) zwischen peritonealer Endometriose und der Makrophagen-Aktivität nachgewiesen, was wiederum die Theorie stützt, dass eine unzureichende Funktion der natürlichen Killerzellen die Krankheitsentstehung begünstigt.(Symons et al., 2018)

Epidemiologisch gibt es statistisch relevante Häufungen bei bestimmten Begleiterkrankungen. So scheint es z.B. einen Zusammenhang zwischen Autoimmunerkrankungen mit Endometriose zu geben. Es wurde eine erhöhte Prävalenz bei Patientinnen mit Hypothyreose, Lupus erythematodes, Rheumatoider Arthritis und Multiple Sklerose festgestellt.(Sinaii et al., 2002) In welcher Beziehung diese Assoziation jedoch steht, ist ungewiss. Es könnte sich um einen Risikofaktor oder auch um ähnliche Pathomechanismen und damit auslösende Faktoren handeln.(Bungum et al., 2014, Shigesu et al., 2019)

Die Angiogenese spielt bei der Entstehung der Läsionen eine besonders wichtige Rolle, da die Herde zum wachen ihre eigenen Gefäße und den Anschluss an die Blutversorgung benötigen. Sie sind auf die Versorgung mit Sauerstoff und Nährstoffen angewiesen und auch auf die hormonelle Stimulation. Zudem müssen die Endometrioseinseln ihre Stoffwechselabbauprodukte, wie alle anderen vitalen Zellen, über das Blut abgeben und entsorgen. Angiogenetische Faktoren, Steroide und Wachstumsfaktoren aus der Peritonealflüssigkeit sind wichtige Faktoren für die Sprießung von neuen Gefäßen. Wichtige Angiogenesefaktoren, die in verschiedenen Arbeiten identifiziert werden konnten, sind der Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), der Fibroblast Growth Factor (FGF) und der Platelet Derived Growth Factor (PDGF). (Emamifar et al., 2012) Ein weiterer fördernder Einfluss auf die Angiogenese ist oxidativer Stress, der unter anderem durch Apoptosen ausgelöst wird. (Gordts et al., 2017, Koninckx et al., 2019, Parazzini et al., 2017)

Die Neoangiogenese von endometriotischen Läsionen konnte auch in einem *in vitro* Modell gezeigt werden. Dabei wurde die Chorioallantoismembran (CAM), die ein Hühnerembryo bedeckt, als Nährboden genutzt, um Endometrioseherde zu züchten. Auf die Membran wurden Fragmente menschlichen Menstruationsendometriums aufgebracht. Diese reorganisierten sich und bildeten endometriotische Läsionen aus, die Neoangiogenese induzierten und überlebten. (Nap et al., 2003)

Fest steht, dass bei Endometriose-Patientinnen die Kommunikation zwischen Stammzell-Signalwegen und den Signalwegen der Hormone Östrogen und Progesteron gestört ist. Verursacht wird diese gestörte Kommunikation womöglich dadurch, dass Stammzellen an ihre Nachkommen eine Progesteron-Resistenz vererben. (Barra et al., 2019) Durch den prämenopausalen Erkrankungszeitpunkt wird deutlich, dass der hormonelle Einfluss eine entscheidende Komponente in der Pathogenese der Endometriose darstellt. Diese Theorie wird dadurch untermauert, dass in der Therapie der Endometriose hormonsenkende Konzepte einen mildernden Effekt zeigen. Natürlich weist auch postmenopausales Endometrium Stammzellen auf, doch ohne den wechselseitigen Einfluss der Hormone Östrogen und Progesteron bleibt eine Krankheitsentstehung aus. (Barra et al., 2019)

Interessant ist, dass sich bei Endometriose Patientinnen sowohl im eutopen Endometrium, als auch in den Läsionen, das Enzym Aromatase P450 findet, das die Umwandlung von Androgenen in Östrogene katalysiert. (Noble et al., 1996, Noble et al., 1997) Dieses Enzym findet sich in unterschiedlichen menschlichen Geweben wie z.B. im Fettgewebe, jedoch normalerweise nicht im Endometrium. (Kitawaki et al., 1997) Die Aromataseaktivität wird unter anderem durch erhöhte Prostaglandin-E2-Spiegel stimuliert. (Noble et al., 1997, Kitawaki et al., 1997, Bulun et al., 2001) Das könnte erklären, wieso COX-2-Hemmer einen positiven Einfluss auf die Erkrankung haben. Die Verwendung von nicht steroidalen Antirheumatika (NSAR) zeigt bei 45-53% der Frauen, die unter Dysmenorrhoe leiden eine Schmerzreduktion. (Sharghi et al., 2019) Das könnte nicht nur durch die Schmerzlinderung per se bedingt sein, sondern auch dadurch, dass die Induktion des Enzyms Cyclooxygenase Typ 2 gehemmt wird und so

der Prostaglandinspiegel niedrig bleibt, was wiederum eine niedrigere Aktivität der Aromatase bedingt. Auch direkte Hemmer der Aromatase sind mögliche therapeutische Werkzeuge, die allerdings aufgrund ihrer umfangreichen unerwünschten Arzneimittelwirkungen keinen Einsatz finden.(Barra et al., 2018)

Wie es die relativ kurzlebigen Endometriumzellen schaffen, sich im extrauterinen Milieu anzusiedeln, erklärt die Stammzellhypothese. 1978 wurde erstmalig von Prianishnikov in Erwägung gezogen, dass in der tieferen Basalschicht neben Epithelzellen auch adulte Stammzellen des Endometriums angesiedelt sind.(Prianishnikov, 1978) Diese Stammzellen, welche aufgrund ihrer Telomerasekompetenz zeitweise proliferieren können, befinden sich auch in den ektopen Läsionen und ermöglichen der Endometriose eine gewissen Apoptoseresistenz.(Diedrich, 2007) So wurde ein signifikant verlängertes Überleben der Zellen nachgewiesen. Auch das eutope Endometrium von erkrankten Frauen weist eine höhere Apoptoseresistenz auf, als das gesunder Frauen.(Agic et al., 2009, Beliard et al., 2004, Gebel et al., 1998) Die Apoptoseresistenz ist auf eine veränderte DNA-Fragmentation sowie auf eine veränderte Zellproliferation und -differenzierung zurückzuführen.(Sturlese et al., 2011, Vetvicka et al., 2016, Lac et al., 2019, Tabibzadeh et al., 1995)

Dass eine fehlerhafte Funktion endometrialer Stammzellen einen Pathomechanismus der Endometriose bedingen könnte, wurde in vielen verschiedenen Arbeiten untersucht. Auch in dieser wissenschaftlichen Arbeit wird insbesondere die Transplantationstheorie überprüft.

Diverse Forscher auf der ganzen Welt konnten zeigen, dass das menschliche Endometrium Stammzeleigenschaften beherbergt. Hierbei handelt es sich um mesenchymale und epitheliale Stammzellen im stromalen bzw. epithelialen Kompartiment, die ihren Sitz sehr wahrscheinlich in der Basalis des Endometriums haben.(Barra et al., 2019) Zusätzlich finden sich im Endometrium hämatopoetische Stammzellen und endotheliale Vorläuferzellen, die aus dem Knochenmark stammen und zu Stromafibroblasten bzw. Endothelzellen differenzieren.(Barra et al., 2019) Die endometrialen Stammzellvorläufer können verschiedene Ursprünge haben. Sie können disloziertem menstruellem Endometrium entstammen, aus embryonalen Überresten des Müllergangs stammen oder es kann sich um zirkulierende Stammzellen des Knochenmarks handeln.(Lagana et al., 2017)

Im Jahr 2007 gelang es, aus Menstruationsblut stromale adulte Stammzellen zu gewinnen, die ein hohes Differenzierungspotenzial hatten. Sie konnten zu Adipozyten, Osteoblasten, Chondrozyten, Kardiozyten, Myozyten und Endothelien differenzieren.(Meng et al., 2007) Auch die Transdifferenzierung in endodermales und ektodermales Gewebe, wie Hepatozyten, Lungeneithelien und Neuronen war möglich.(Meng et al., 2007) Dies zeigt, dass sehr potente adulte Stammzellen im Menstruationsblut vorhanden sind, die potenziell auch die Entstehung von ektopem Endometrium ermöglichen.

Doch wie wird entschieden, ob diese Stammzellen bloß Stammzellen bleiben, proliferieren oder ausdifferenzieren? Das Schicksal der Zellen wird *in vivo* wahrscheinlich durch diverse intrinsische und extrinsische Faktoren beeinflusst. Zu den intrinsischen Faktoren gehören die Transkriptionsfaktoren Oct-3/4, Nanog und SOX2.(Morrison et al., 1997) Entscheidende äußere Einflüsse sind die Einwirkung von Wachstumsfaktoren, Interaktionen mit Nachbarzellen (Zell-Zell) sowie der Basalmembran (Zell-Matrix-Wechselwirkung).(Potten and Loeffler, 1990) Und auch die Kommunikation mittels Liganden, die zu den Oberflächenmolekülen passen ist wichtig. Hier sind die IL6 Familie (JAK-STAT Signaltransduktionsweg)(Aznaurova et al., 2014) und die Wnt Familie (beta-catenin Signaltransduktionsweg)(Clevers et al., 2014) zu nennen. Der Wnt-beta-catenin Signaltransduktionsweg ist für die endometriale Regeneration im zyklischen Endometrium von entscheidender Bedeutung. Insgesamt 19 verschiedene Wnt- Proteine sorgen für die Aufrechterhaltung vieler Stammzellen, darunter neurale, mamäre, embryonale, mesenchymale, hämatopoetische, intestinale, gastrische und epidermale.(Clevers et al., 2014)

Die Identifizierung humaner epithelialer Stammzellen ist schwierig, da es an spezifischen Markern mangelt und die Zellen *in vitro* nicht langlebig sind.(Kim et al., 2005) Das Fehlen morphologischer Merkmale und spezifischer Zellmarker, sowohl auf der Oberfläche als auch im Zytoplasma, erschwert es adulte Stammzellen auf direktem Weg nachzuweisen.(Gargett, 2007, Simons and Clevers, 2011, Bongso and Richards, 2004, Shostak, 2006) Daher müssen adulte Stammzellen mittels ihrer charakteristischen funktioniellen Eigenschaften ausfindig gemacht werden. Dazu zählen ihre Fähigkeit zur Regenerartion, Differenzierung und ihr proliferatives Potenzial.(Potten and Loeffler, 1990, Gargett, 2007, Morrison et al., 1997) In dem man nun Zellen mit diesen Eigenschaften findet, hat man einen indirekten Beweis für die Existenz endometrialer Stammzellen. Die Marker, die in dieser Arbeit verwendet wurden, um Stammzeleigenschaften nachzuweisen, sind Musashi1, KLF4, Oct-3/4, NOTCH1 und Nanog.

Musashi1 ist ein RNA-bindendes Protein in neuralen Stammzellen und ein intrazellulärer Marker für epitheliale Vorläuferzellen. Es reguliert die Signalwege der Selbsterneuerung sowie die asymmetrische Teilung seiner Zellen. Das Protein ist intrazellulär, sowohl nukleär als auch zytoplasmatisch, lokalisiert.

Im menschlichen Endometrium konnte Musashi1 in Epithelzellen, sowie in Stromazellen immunlokalisiert werden.(Götte et al., 2008) Es ist mit seinem molekularen Ziel NOTCH1 und der Telomerase kolokalisiert. Zellen, die Musashi1 exprimieren, mitexprimieren auch eine Untereinheit der Telomerase.(Götte et al., 2008) Eine hohe Telomerase-Aktivität ist ein Merkmal der Endometriose.(Hapangama et al., 2008) Musashi1 positive Zellen wurden hauptsächlich in der Basalis während der proliferativen Phase des Menstruationszyklus gefunden (im Vergleich zur sekretorischen Phase).(Lu et al., 2011) Dies ist plausibel, da es durch seine Funktionen vor allem in der Phase der Erneuerung des Endometriums benötigt wird. Es wurde in größerem Umfang in ektopen Endometrioseläsionen nachgewiesen, als im

eutopen Endometrium gesunder Probanden.(Götte et al., 2008) Dies lässt vermuten, dass die Aktivität von Musashi1 für die Neuansiedlung von Endometrioseläsionen bedeutsam ist.

Beim Endometriumkarzinom ist eine hohe Expression von Musashi1 nachweislich mit einer schlechten Prognose verbunden.(Götte et al., 2008, Ma et al., 2015, Gotte et al., 2011a) Das legt nahe, dass das Endometriumkarzinom durch eine maligne Transformation von adulten Stammzellen des Endometriums entsteht.

KLF4 (krüppel-like factor 4) ist ein Transkriptionsfaktor der Familie der Zink Finger Transkriptions Faktoren. Er wurde erstmalig 1996 identifiziert und wird vom KLF4 Gen codiert. Das Protein besteht aus 513 Aminosäuren und reguliert die Proliferation, Differenzierung, Apoptose und Reprogrammierung von somatischen Zellen. Es ist an der Erhaltung der Pluripotenz von Stammzellen beteiligt und daher ein Indikator für die Kapazität einer Stammzelle.(Forte et al., 2009). KLF4 wird in vielen unterschiedlichen Geweben expremiert. Es findet sich z.B. im Magen, im Darm, in den Nieren, in der Hornhaut, im Knochen- und Zahngewebe, und im männlichen und weiblichen Fortpflanzungstrakt. In manchen Krebsarten wie z.B. Kolorektalem Krebs oder im Magen fungiert es als Tumorsupressor und wird daher eher als Schutzfaktor gegen Invasivität diskutiert.(Wei et al., 2005, Choi et al., 2006) In sich-nicht-teilenden Zellen wird KLF4 stark expremiert und seine Überexpression induziert einen Zellzyklusarrest, so kann es kontextabhängig einer übermäßigen Proliferation vorbeugen. Somit besteht die Funktion von KLF4 darin, die Zellteilung zu verhindern, wenn die DNA beschädigt ist. Auch bei der Regulierung der Chromosenzahl, sprich der genetischen Stabilität, spielt es so eine wichtige Rolle.

Widersprüchlich zu seiner Schutzfunktion steht die Expression von KLF4 in ektopen Endometrioseläsionen, wo es hochreguliert vorgefunden wird.(Eggers et al., 2016) Hier entscheidet möglicherweise die gleichzeitige Aktivierung anderer Signalwege darüber, welche Funktion KLF4 übernimmt. Wird es z.B. gleichzeitig mit Cadherin-1 (einem Tumorsupressorgen) aktiviert, kann es Endometriosezellen vermutlich daran hindern, tief infiltrierende Läsionen zu bilden.(Eggers et al., 2016) Somit ist der Transkriptionsfaktor in der Lage kontextabhängig als Onkogen oder Tumorsupressor zu fungieren.(Rowland et al., 2005) Welchen Beitrag KLF4 in der Pathogenese der Endometriose genau hat, bleibt unklar.

Oct-3/4 (auch bekannt als Oct-3, Oct-4 und POU5f1) ist Mitglied der POU-Transkriptionsfamilie. Er ist ein Marker für pluripotente embryonale Stammzellen und einige adulte Stammzellen. Da er für die Selbsterneuerung und Aufrechterhaltung der Pluripotenz von embryonalen Stammzellen verantwortlich ist,(Sterneckert et al., 2012) wird er auch als Pluripotenzmarker bezeichnet.(Cervello et al., 2007). Seine Herunterregulung bedingt einen Verlust der Pluripotenz.(Forte et al., 2009) Viele Gewebe beinhalten Stammzellen, die Oct-3/4 expremieren. Unter anderem konnte er in adulten Stammzellen des Endometrium gefunden werden.(Bentz et al., 2010, Cho et al., 2004, Matthai et al., 2006, Park et al., 2011, Indumathi et al., 2013) Dort tritt der Transkriptionsfaktor vor allem im stromalen Kompartiment auf (Stromazellen und

Blutgefäße).(Matthai et al., 2006) Er wird zu jedem Zeitpunkt des Menstruationszyklus immer gleich exprimiert, sodass er offenbar hormonunabhängig auftritt.(Bentz et al., 2010) Seine Aufgabe ist es wahrscheinlich zur *De-novo-Synthese* von Stroma, Drüsen und dem Gefäßsystem im Menstruationszyklus beizutragen.(Forte et al., 2009)

Auch in Endometrioseläsionen kann man den Marker nachweisen. Dort ist er sogar vermehrt zu finden. In quantitativen Vergleichen wurde festgestellt, dass die Expression von Oct-3/4 im ektopen Endometrium von erkrankten Frauen stärker ist, als im eutopen Endometrium von sowohl erkrankten, als auch gesunden Probandinnen.(Pacchiarotti et al., 2011) Der Prozentsatz an Endometriumepithelzellen, die Oct-3/4 in ektopen Läsionen exprimierten lag bei 32,3%, der im eutopischen Endometrium hingegen nur bei 3,5% bei Frauen mit Endometriose und 3,2% im eutopen Endometrium von gesunden Frauen(Pacchiarotti et al., 2011). Wie es jedoch zu dieser Überexpression von pluripotenten Zellen kommt, ist unklar. Zudem wurde bei *in vitro* Versuchen festgestellt, dass eine Überexpression von Oct-3/4 eine größere Migrationskapazität zur Folge hatte. Diese Erkenntnisse deuten darauf hin, dass der Transkriptionsmarker auch die Migration von Endometriumzellen fördern könnte.(Chang et al., 2013b)

Die Familie der Notch-Proteine sind ligandenabhängige Transmembranrezeptoren, die extrazelluläre Signale weiterleiten, die für das Zellschicksal und die Differenzierung verantwortlich sind.(Movahedan et al., 2012, He et al., 2016, Qi et al., 2015, Cobellis et al., 2008) Notch1 ist ein heterodimerer 300-kDa-Typ1-Transmembranrezeptor, der durch Zell-Zell-Kontakt ausgelöste Signale vermittelt.(Afshar et al., 2012) Notch1 wird vorwiegend im Zytoplasma positiv immungefärbt. Diese Immunexpression ist auch im Endometrium zu finden. Dort tritt der Rezeptor im Verlauf des Menstruationszyklus dynamisch auf.(Qi et al., 2015, Mori et al., 2012) Die maximale Farbintensität wurde in der sekretorischen Phase beobachtet.(Van Sinderen et al., 2014) Dies könnte dadurch bedingt sein, dass Notch1 über das Zellschicksal entscheidet und so eine „Abstoßung“ der Funktionalis bewirkt.

Notch1 ist bei Endometriospatientinnen auch im eutopen Endometrium verstärkt exprimiert und könnte mit einem erhöhten Schweregrad der Erkrankung assoziiert sein. Im Tierexperiment führte die Ausschaltung von Notch1 in humanen endometrialen Epithel- und Stromazellen zu einer verringerten Zellproliferation, Migration und Größe der resultierenden endometrialen Läsionen, wenn sie in die Peritonealhöhle von Mäusen injiziert wurden.(He et al., 2016). Außerdem findet sich auch bei Endometriumkarzinomen eine erhöhte Expression von Notch1.(Cobellis et al., 2008), was die Vermutung stützt, dass Notch1 an der Proliferation von Endometriumzellen beteiligt ist.

Der Name Nanog leitet sich von „Tír na nÓg“, dem „Land der ewigen Jugend“ in einer irischen Sage ab. Er ist darauf zurückzuführen, dass Nanog als wichtiger Transkriptionsfaktor, die Selbsterneuerung von Stammzellen steuert. Er ist zudem neben Oct-3/4 und anderen Schlüsselfaktoren an der Erhaltung der Pluripotenz von Stammzellen beteiligt.(Forte et al., 2009) Die Expression von Nanog bewirkt eine

Selbsterneuerung in embryonalen Stammzellen. Bei Abwesenheit hingegen differenzieren die Zellen in endodermale Zellen aus. Das codierende Gen liegt auf Chromosom 12, das Protein besteht aus 305 Aminosäuren.

Nanog findet sich im Endometrium und auch in Endometrioseläsionen. In diesen ektopen Zellen ist es im Vergleich zu gesunden Kontrollen des eutopen Endometrium signifikant überexprimiert.(Chang et al., 2013a, Forte et al., 2009) Nanog, Oct-3/4 und SOX2 können die gegenseitige Expression induzieren.(Siu et al., 2013) Dabei wird Nanog eher als Co-Faktor für Oct-3/4 und SOX2 betrachtet, die als potentere Transkriptionsfaktor gelten und in der Hierarchie höher stehen. Nanog ist wahrscheinlich auf die Aktivierung und transkriptionale Regulation von Oct-3/4 und SOX2 angewiesen.(Rodda et al., 2005)

SOX2 ist auch ein Transkriptionsfaktor, der ähnlich wie Oct-3/4 und Nanog, für die Aufrechterhaltung der Pluripotenz embryonaler Stammzellen verantwortlich ist. Ebenso wie Nanog und Oct-3/4 kommt er im ektopen Endometrium im Vergleich zum gesunden eutopen Endometrium gehäuft vor.(Gotte et al., 2011b) In dieser wissenschaftlichen Arbeit wurde SOX2 nicht untersucht, jedoch wäre eine genauere Betrachtung des Vorkommens abhängig von der Lokalisation der Endometrioseläsionen in künftigen Studien interessant.

Auch die Betrachtung von c-kit, welcher ein hämatopoetischer Stammzellmarker ist, könnte vielversprechend sein.(Cervello et al., 2007) C-kit ist ein Proto-Onkogen und ein Marker für adulte Stammzellen. Auch er ist im ektopen Endometrium signifikant hochreguliert gegenüber dem eutopen Endometrium von gesunden Kontrollpersonen.(Pacchiarotti et al., 2011)

Zusammenfassend lässt sich zwar feststellen, dass sich im eutopen Endometrium, sowie in ektopen Endometrioseläsionen Zellen mit Stammzellcharakter befinden, doch wie diese zur Pathogenese beitragen, ist weiterhin ungeklärt. Nur das Vorhandensein der Zellen stellt noch keine ausreichende Erkenntnis dar. So ist es beispielsweise fraglich, wie es zu der Überexpression kommt und wie man diese verhindern kann. Den genauen Mechanismus zu verstehen wäre erstrebenswert, damit man die Chance hat, Therapeutika zu entwickeln, die zielgerichtet genau dort ansetzen und wirken.

Abschließend lässt sich sagen, dass die Ätiopathogenese der Endometriose vermutlich ein multifaktorieller Prozess ist. Ein einziges Erklärungsmodell reicht für die Heterogenität der Erkrankung nicht aus.(Vercellini et al., 2014)

Sicher ist, dass Endometriose Läsionen Zellen mit Stammzeleigenschaften aufweisen. Diese spielen neben mechanischen, endokrinen, genetischen und immunologischen Faktoren vermutlich eine Rolle bei der Krankheitsentstehung. Wahrscheinlich ist die Ätiologie der Endometriose ein komplexes Wechselspiel unterschiedlicher Faktoren.

Es wäre auch denkbar, dass den verschiedenen Manifestationen der Endometriose unterschiedliche pathogene Wege zu Grunde liegen. Die Ausprägungsformen der Erkrankung sind sehr variabel und je nach Lokalisation zeigen sich zudem

unterschiedliche Eigenschaften, wie z.B. eine heterogene Expression von Stammzellen je nach Infiltrationstiefe. Demnach wäre es sinnvoll, nicht nach einer Ätiopathogenese zu suchen, die das gesamte Spektrum der Endometriose erklärt, sondern in der Forschung offen zu bleiben für verschiedene koexistierende Ätiologien.

4.5 Ausblick

Es gibt im Feld der Endometriose weiterhin großen Forschungsbedarf. So heißt es beispielsweise in der aktuellen Leitlinie der DGGG, OEGGG und SGGG zur Endometriose: „Verlässliche Daten zur Prävalenz der Endometriose liegen nicht vor.“(Leitlinienprogramm DGGG, 2018a) Dies liegt zum einen daran, dass die internationale Vergleichbarkeit von Studien schwierig ist. Durch die vermehrte Anwendung bspw. von Scores wie rASRM kann zukünftig eine bessere internationale Vergleichbarkeit in Studien ermöglicht werden. Zum anderen ist die unklare Prävalenz durch die schwierige und invasive Diagnosestellung der Erkrankung geschuldet. Demnach ergibt sich daraus, der erste große Forschungsbereich, der sich im Interesse der Wissenschaft und der Patientinnen verbessern muss: Die Diagnostik der Endometriose. Die Erkrankung sollte schneller, sicherer und weniger invasiv diagnostizierbar sein.

Bislang galt die operative Diagnosesicherung per Laparoskopie oder auch Laparotomie als Goldstandard. Diese ist jedoch nebenwirkungsreich, aufwendig und dennoch mit einer hohen Rate an falsch positive Diagnosen (intraoperativ > 20%) verbunden.(Haas et al., 2013)

Bevor es also zur Sicherung per Operation kommt, gilt es den positiv prädiktiven Wert zu erhöhen, indem das Patientenklintel selektiert wird. Dies gelingt neben einer Anamnese und körperlichen Untersuchung über bildgebende Verfahren. Wird in der Familienanamnese festgestellt, dass Verwandte betroffen sind, könnte künftig eine genetische Beratung erfolgen, verglichen mit einer BRCA-Mutation.(Parasar et al., 2017) Dazu fehlt jedoch noch die Identifikation eines bestimmten Gens.

Ein möglicher Bluttest könnte ein Panel von sechs Autoimmun-Biomarkern sein, welches identifiziert wurde und gute Daten aufweist.(Sensitivität > 60% und Spezifität >80%)(Gajbhiye et al., 2017)

Eine sehr vielversprechende neue diagnostische Methode ist der Endo-Test der französischen Firma Ziwig. Dieser beruht auf dem Nachweis von Endometriose spezifischer Mikro-RNA im Speichel. Er wurde bei insgesamt 200 Patientinnen getestet und zeigte eine hohe Sensitivität sowie Spezifität.(Bendifallah et al., 2022) Der klare Vorteil liegt in der geringen Invasivität und leichten Verfügbarkeit. So könnten zukünftig Endometriosepatientinnen schnell, zuverlässig und nebenwirkungsfrei diagnostiziert werden.

Der zweite große Forschungsbereich, der sich im Interesse der Wissenschaft und der Patientinnen weiterentwickeln muss, ist die Therapie der Endometriose. Neue Therapieformen sollten weniger invasiv sein, weniger unerwünschte Arzneimittel-Wirkungen mit sich bringen und langfristig wirksam sein. Es wäre wünschenswert, die Rezidivrate zu senken oder sogar eine komplette Heilung zu erreichen.

Viele der bislang verwendeten Medikamente zeigen zu viele unerwünschte Arzneimittelwirkungen, wie bspw. die Aromatasehemmer.(Barra et al., 2018)

Zu anderen Medikamenten wie dem Progesteron-Rezeptor-Modulators (PRM) Mifepriston (Fu et al., 2017) oder der Anwendung von Statinen (Vitagliano et al., 2016) liegen zu wenige Daten vor.

Ein interessanter neuer Ansatz ist die Verwendung von induzierten pluripotenten Stammzellen (iPS) zur Behandlung von Endometriose. Diese werden unter definierten hormonellen und molekularen Bedingungen epigenetisch umprogrammiert, sodass diese gesunde endometriale Stammzellen produzieren. Sie könnten dann fehlfunktionierende Stammzellen ersetzen und für eine physiologische Regeneration des Endometrium sorgen.(Bulun et al., 2019) Bevor diese Methode jedoch Anwendung findet, gilt es einige technische Herausforderungen zu meistern.

„Aufgrund der unklaren Ätiologie der Endometriose ist eine kausale Therapie nicht möglich.“ heißt es in der Leitlinie zur Therapie der Endometriose.(Leitlinienprogramm DGGG, 2018a) Um in den Bereichen Diagnostik und Therapie Fortschritte zu erzielen, muss demnach weiterhin die Grundlagenforschung zur Ätiopathogenese vorangebracht werden.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass Zellen mit Stammzeleigenschaften in Endometrioseläsionen vorhanden sind und dass sie je nach Lokalisation der Herde unterschiedlich exprimiert werden. In welcher Weise die Stammzellen jedoch zum Krankheitsprozess beitragen, ist bislang nicht geklärt und sollte genauer erforscht werden.

Dazu wäre es sinnvoll weitere Marker zu testen und auch das eutrope Endometrium von Endometriosepatientinnen zu betrachten. Zudem sollten weitere Untersuchung auch abhängig von der Klinik der Patientinnen erfolgen (z.B. Erstmanifestation vs. Rezidiv, Symptomschwere).

5 LITERATUR- UND QUELLENVERZEICHNIS

- ADAMSON, G. D. & PASTA, D. J. 2010. Endometriosis fertility index: the new, validated endometriosis staging system. *Fertil Steril*, 94, 1609-15.
- AFSHAR, Y., JEONG, J. W., ROQUEIRO, D., DEMAYO, F., LYDON, J., RADTKE, F., RADNOR, R., MIELE, L. & FAZLEABAS, A. 2012. Notch1 mediates uterine stromal differentiation and is critical for complete decidualization in the mouse. *FASEB J*, 26, 282-94.
- AGIC, A., DJALALI, S., DIEDRICH, K. & HORNUNG, D. 2009. Apoptosis in endometriosis. *Gynecol Obstet Invest*, 68, 217-23.
- ARMOUR, M., DAHLEN, H. G. & SMITH, C. A. 2016. More Than Needles: The Importance of Explanations and Self-Care Advice in Treating Primary Dysmenorrhea with Acupuncture. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 3467067.
- AZNAUROVA, Y. B., ZHUMATAEV, M. B., ROBERTS, T. K., ALIPER, A. M. & ZHAVORONKOV, A. A. 2014. Molecular aspects of development and regulation of endometriosis. *Reprod Biol Endocrinol*, 12, 50.
- BARRA, F., LAGANA, A. S., CASARIN, J., GHEZZI, F., FERRO DESIDERI, L., SCALA, C. & FERRERO, S. 2019. Molecular Targets for Endometriosis Therapy: Where We Are and Where We Are Going? *Int J Fertil Steril*, 13, 89-92.
- BARRA, F., SCALA, C., MAIS, V., GUERRIERO, S. & FERRERO, S. 2018. Investigational drugs for the treatment of endometriosis, an update on recent developments. *Expert Opin Investig Drugs*, 27, 445-458.
- BASSIOUNY, D., EL-BAZ, M. A., GAMIL, T. M., SHAMS, N., ISMIIL, N., DUBE, V., HAN, G., CESARI, M., LU, F. I., SLODKOWSKA, E., CHIU, H. F., NAEIM, M., LI, N., NOFECH-MOZES, S. & KHALIFA, M. A. 2019. Endometriosis-associated Ovarian Cancer is a Subset With a More Favorable Outcome and Distinct Clinical-pathologic Characteristics. *Int J Gynecol Pathol*, 38, 435-442.
- BELIARD, A., NOEL, A. & FOIDART, J. M. 2004. Reduction of apoptosis and proliferation in endometriosis. *Fertil Steril*, 82, 80-5.
- BENDIFALLAH, S., SUISSE, S., PUCHAR, A., DELBOS, L., POILBLANC, M., DESCAMPS, P., GOLFIER, F., JORNEA, L., BOUTEILLER, D., TOUBOUL, C., DABI, Y. & DARAI, E. 2022. Salivary MicroRNA Signature for Diagnosis of Endometriosis. *J Clin Med*, 11.
- BENTZ, E. K., KENNING, M., SCHNEEBERGER, C., KOLBUS, A., HUBER, J. C., HEFLER, L. A. & TEMPFER, C. B. 2010. OCT-4 expression in follicular and luteal phase endometrium: a pilot study. *Reprod Biol Endocrinol*, 8, 38.
- BISCHOFF, F. Z. & SIMPSON, J. L. 2000. Heritability and molecular genetic studies of endometriosis. *Hum Reprod Update*, 6, 37-44.
- BONGSO, A. & RICHARDS, M. 2004. History and perspective of stem cell research. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 18, 827-42.
- BOURDEL, N., CHAUVET, P., BILLONE, V., DOURIDAS, G., FAUCONNIER, A., GERBAUD, L. & CANIS, M. 2019. Systematic review of quality of life measures in patients with endometriosis. *PLoS One*, 14, e0208464.
- BRECKWOLDT M., K. M., PFEIDERER A. 2007. *Gynäkologie und Geburtshilfe*, Thieme.
- BULUN, S. E., YANG, S., FANG, Z., GURATES, B., TAMURA, M., ZHOU, J. & SEBASTIAN, S. 2001. Role of aromatase in endometrial disease. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 79, 19-25.

- BULUN, S. E., YILMAZ, B. D., SISON, C., MIYAZAKI, K., BERNARDI, L., LIU, S., KOHLMEIER, A., YIN, P., MILAD, M. & WEI, J. 2019. Endometriosis. *Endocr Rev*, 40, 1048-1079.
- BUNGUM, H. F., VESTERGAARD, C. & KNUDSEN, U. B. 2014. Endometriosis and type 1 allergies/immediate type hypersensitivity: a systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 179, 209-15.
- BURGHHAUS, S., FEHM, T., FASCHING, P. A., BLUM, S., RENNER, S. K., BAIER, F., BRODKORB, T., FAHLBUSCH, C., FINDEKLEE, S., HABERLE, L., HEUSINGER, K., HILDEBRANDT, T., LERMANN, J., STRAHL, O., TCHARTCHIAN, G., BOJAHR, B., PORN, A., FLEISCH, M., REICKE, S., FUGER, T., HARTUNG, C. P., HACKL, J., BECKMANN, M. W. & RENNER, S. P. 2016. The International Endometriosis Evaluation Program (IEEP Study) - A Systematic Study for Physicians, Researchers and Patients. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 76, 875-881.
- BURNEY, R. O. & GIUDICE, L. C. 2012. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. *Fertil Steril*, 98, 511-9.
- CARVALHO, L. F., ROSSENER, R., AZEEM, A., MALVEZZI, H., SIMOES ABRAO, M. & AGARWAL, A. 2013. From conception to birth - how endometriosis affects the development of each stage of reproductive life. *Minerva Ginecol*, 65, 181-98.
- CERVELLO, I., MARTINEZ-CONEJERO, J. A., HORCAJADAS, J. A., PELLICER, A. & SIMON, C. 2007. Identification, characterization and co-localization of label-retaining cell population in mouse endometrium with typical undifferentiated markers. *Hum Reprod*, 22, 45-51.
- CHAICHIAN, S., KABIR, A., MEHDIZADEHKASHI, A., RAHMANI, K., MOGHIMI, M. & MOAZZAMI, B. 2017. Comparing the Efficacy of Surgery and Medical Therapy for Pain Management in Endometriosis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Pain Physician*, 20, 185-195.
- CHANG, J. H., AU, H. K., LEE, W. C., CHI, C. C., LING, T. Y., WANG, L. M., KAO, S. H., HUANG, Y. H. & TZENG, C. R. 2013a. Expression of the pluripotent transcription factor OCT4 promotes cell migration in endometriosis. *Fertil Steril*, 99, 1332-1339 e5.
- CHANG, J. H., AU, H. K., LEE, W. C., CHI, C. C., LING, T. Y., WANG, L. M., KAO, S. H., HUANG, Y. H. & TZENG, C. R. 2013b. Expression of the pluripotent transcription factor OCT4 promotes cell migration in endometriosis. *Fertil Steril*, 99, 1332-1339.e5.
- CHARATSI, D., KOUKOURA, O., NTAVELA, I. G., CHINTZIOU, F., GKORILA, G., TSAGKOULIS, M., MIKOS, T., PISTOFIDIS, G., HAJIIOANNOU, J. & DAPONTE, A. 2018. Gastrointestinal and Urinary Tract Endometriosis: A Review on the Commonest Locations of Extrapelvic Endometriosis. *Adv Med*, 2018, 3461209.
- CHO, N. H., PARK, Y. K., KIM, Y. T., YANG, H. & KIM, S. K. 2004. Lifetime expression of stem cell markers in the uterine endometrium. *Fertil Steril*, 81, 403-7.
- CHOI, B. J., CHO, Y. G., SONG, J. W., KIM, C. J., KIM, S. Y., NAM, S. W., YOO, N. J., LEE, J. Y. & PARK, W. S. 2006. Altered expression of the KLF4 in colorectal cancers. *Pathol Res Pract*, 202, 585-9.
- CLEMENT, P. B. 2007. The pathology of endometriosis: a survey of the many faces of a common disease emphasizing diagnostic pitfalls and unusual and newly appreciated aspects. *Adv Anat Pathol*, 14, 241-60.
- CLEMENT, P. B. & YOUNG, R. H. 2000. Two Previously Unemphasized Features of Endometriosis: Micronodular Stromal Endometriosis and Endometriosis with Stromal Elastosis. *Int J Surg Pathol*, 8, 223-227.

- CLEVERS, H., LOH, K. M. & NUSSE, R. 2014. Stem cell signaling. An integral program for tissue renewal and regeneration: Wnt signaling and stem cell control. *Science*, 346, 1248012.
- COBELLIS, L., CAPRIO, F., TRABUCCO, E., MASTROGIACOMO, A., COPPOLA, G., MANENTE, L., COLACURCI, N., DE FALCO, M. & DE LUCA, A. 2008. The pattern of expression of Notch protein members in normal and pathological endometrium. *J Anat*, 213, 464-72.
- COCKERHAM, A. Z. 2012. Adenomyosis: a challenge in clinical gynecology. *J Midwifery Womens Health*, 57, 212-20.
- D'HOOOGHE, T. M. 1997. Clinical relevance of the baboon as a model for the study of endometriosis. *Fertil Steril*, 68, 613-25.
- DARROW, S. L., VENA, J. E., BATT, R. E., ZIELEZNY, M. A., MICHALEK, A. M. & SELMAN, S. 1993. Menstrual cycle characteristics and the risk of endometriosis. *Epidemiology*, 4, 135-42.
- DESTATIS, S. B. 2018. Tiefgegliederte Diagnosedaten der Krankenhauspatientinnen und -patienten (Datensatzstruktur) 2017. In: BUNDESAMT, S. (ed.).
- DIEDRICH, H., JONAT, SCHULTZE-MOSGAU, SCHNEIDER, WEISS, KAPITELAUTOREN I. METTLER, A. SCHMUTZLER 2007. *Gynäkologie und Geburtshilfe*, Springer Verlag.
- EBERT, A. D., DONG, L., MERZ, M., KIRSCH, B., FRANCUSKI, M., BOTTCHEER, B., ROMAN, H., SUVITIE, P., HLAVACKOVA, O., GUDE, K. & SEITZ, C. 2017. Dienogest 2 mg Daily in the Treatment of Adolescents with Clinically Suspected Endometriosis: The VISanne Study to Assess Safety in ADOlescents. *J Pediatr Adolesc Gynecol*, 30, 560-567.
- EDELMAN, A., MICKS, E., GALLO, M. F., JENSEN, J. T. & GRIMES, D. A. 2014. Continuous or extended cycle vs. cyclic use of combined hormonal contraceptives for contraception. *Cochrane Database Syst Rev*, CD004695.
- EGGERS, J. C., MARTINO, V., REINBOLD, R., SCHÄFER, S. D., KIESEL, L., STARZINSKI-POWITZ, A., SCHÜRING, A. N., KEMPER, B., GREVE, B. & GÖTTE, M. 2016. microRNA miR-200b affects proliferation, invasiveness and stemness of endometriotic cells by targeting ZEB1, ZEB2 and KLF4. *Reprod Biomed Online*, 32, 434-45.
- EMAMIFAR, B., SALEHI, Z., MEHRAFZA, M. & MASHAYEKHI, F. 2012. The vascular endothelial growth factor (VEGF) polymorphisms and the risk of endometriosis in northern Iran. *Gynecol Endocrinol*, 28, 447-50.
- EVANS, S., FERNANDEZ, S., OLIVE, L., PAYNE, L. A. & MIKOCKA-WALUS, A. 2019. Psychological and mind-body interventions for endometriosis: A systematic review. *J Psychosom Res*, 124, 109756.
- FERENCZY, A. 1998. Pathophysiology of adenomyosis. *Hum Reprod Update*, 4, 312-22.
- FORTE, A., SCHETTINO, M. T., FINICELLI, M., CIPOLLARO, M., COLACURCI, N., COBELLIS, L. & GALDERISI, U. 2009. Expression pattern of stemness-related genes in human endometrial and endometriotic tissues. *Mol Med*, 15, 392-401.
- FU, J., SONG, H., ZHOU, M., ZHU, H., WANG, Y., CHEN, H. & HUANG, W. 2017. Progesterone receptor modulators for endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev*, 7, CD009881.
- GAJBHIYE, R., BENDIGERI, T., GHUGE, A., BHUSANE, K., BEGUM, S., WARTY, N., SAWANT, R., PADTE, K., HUMANE, A., DASMAHAPATRA, P., CHAUHAN, A. & KHAN, S. 2017. Panel of Autoimmune Markers for Noninvasive Diagnosis of Minimal-Mild Endometriosis. *Reprod Sci*, 24, 413-420.
- GARGETT, C. E. 2007. Uterine stem cells: what is the evidence? *Hum Reprod Update*, 13, 87-101.

- GARGETT, C. E., CHAN, R. W. & SCHWAB, K. E. 2008. Hormone and growth factor signaling in endometrial renewal: role of stem/progenitor cells. *Mol Cell Endocrinol*, 288, 22-9.
- GEBEL, H. M., BRAUN, D. P., TAMBUR, A., FRAME, D., RANA, N. & DMOWSKI, W. P. 1998. Spontaneous apoptosis of endometrial tissue is impaired in women with endometriosis. *Fertil Steril*, 69, 1042-7.
- GORDTS, S., KONINCKX, P. & BROSENS, I. 2017. Pathogenesis of deep endometriosis. *Fertil Steril*, 108, 872-885 e1.
- GOTTE, M., GREVE, B., KELSCH, R., MULLER-UTHOFF, H., WEISS, K., KHARABI MASOULEH, B., SIBROWSKI, W., KIESEL, L. & BUCHWEITZ, O. 2011a. The adult stem cell marker Musashi-1 modulates endometrial carcinoma cell cycle progression and apoptosis via Notch-1 and p21WAF1/CIP1. *Int J Cancer*, 129, 2042-9.
- GÖTTE, M., WOLF, M., STAEBLER, A., BUCHWEITZ, O., KELSCH, R., SCHÜRING, A. N. & KIESEL, L. 2008. Increased expression of the adult stem cell marker Musashi-1 in endometriosis and endometrial carcinoma. *J Pathol*, 215, 317-29.
- GOTTE, M., WOLF, M., STAEBLER, A., BUCHWEITZ, O., KIESEL, L. & SCHURING, A. N. 2011b. Aberrant expression of the pluripotency marker SOX-2 in endometriosis. *Fertil Steril*, 95, 338-41.
- HAAS, D., SHEBL, O., SHAMIYEH, A. & OPPELT, P. 2013. The rASRM score and the Enzian classification for endometriosis: their strengths and weaknesses. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 92, 3-7.
- HABIBA, M., PLUCHINO, N., PETIGNAT, P., BIANCHI, P., BROSENS, I. A. & BENAGIANO, G. 2018. Adenomyosis and Endometrial Cancer: Literature Review. *Gynecol Obstet Invest*, 83, 313-328.
- HALME, J., HAMMOND, M. G., HULKA, J. F., RAJ, S. G. & TALBERT, L. M. 1984. Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis. *Obstet Gynecol*, 64, 151-4.
- HANEY, A. F., MUSCATO, J. J. & WEINBERG, J. B. 1981. Peritoneal fluid cell populations in infertility patients. *Fertil Steril*, 35, 696-8.
- HAPANGAMA, D. K., TURNER, M. A., DRURY, J. A., QUENBY, S., SARETZKI, G., MARTIN-RUIZ, C. & VON ZGLINICKI, T. 2008. Endometriosis is associated with aberrant endometrial expression of telomerase and increased telomere length. *Hum Reprod*, 23, 1511-9.
- HE, H., LIU, R., XIONG, W., PU, D., WANG, S. & LI, T. 2016. Lentiviral vector-mediated down-regulation of Notch1 in endometrial stem cells results in proliferation and migration in endometriosis. *Mol Cell Endocrinol*, 434, 210-8.
- HILL, J. A., FARIS, H. M., SCHIFF, I. & ANDERSON, D. J. 1988. Characterization of leukocyte subpopulations in the peritoneal fluid of women with endometriosis. *Fertil Steril*, 50, 216-22.
- HIRSCH, M., BEGUM, M. R., PANIZ, E., BARKER, C., DAVIS, C. J. & DUFFY, J. 2018. Diagnosis and management of endometriosis: a systematic review of international and national guidelines. *BJOG*, 125, 556-564.
- HUDELIST, G., FRITZER, N., THOMAS, A., NIEHUES, C., OPPELT, P., HAAS, D., TAMMAA, A. & SALZER, H. 2012. Diagnostic delay for endometriosis in Austria and Germany: causes and possible consequences. *Hum Reprod*, 27, 3412-6.
- INDUMATHI, S., HARIKRISHNAN, R., RAJKUMAR, J. S., SUDARSANAM, D. & DHANASEKARAN, M. 2013. Prospective biomarkers of stem cells of human endometrium and fallopian tube compared with bone marrow. *Cell Tissue Res*, 352, 537-49.
- JENSEN, J. T., SCHLAFF, W. & GORDON, K. 2018. Use of combined hormonal contraceptives for the treatment of endometriosis-related pain: a systematic review of the evidence. *Fertil Steril*, 110, 137-152 e1.

- JONES, R. K., BULMER, J. N. & SEARLE, R. F. 1998. Phenotypic and functional studies of leukocytes in human endometrium and endometriosis. *Hum Reprod Update*, 4, 702-9.
- K. J. BÜHLING, W. F. 2008. *Intensivkurs Gynäkologie und Geburtshilfe*, Urban und Fischer Verlag.
- KENNEDY, S., BENNETT, S. & WEEKS, D. E. 2001. Affected sib-pair analysis in endometriosis. *Hum Reprod Update*, 7, 411-8.
- KIECHLE, M. 2006. *Gynäkologie und Geburtshilfe*, Elsevier.
- KIM, H. S., KIM, T. H., CHUNG, H. H. & SONG, Y. S. 2014. Risk and prognosis of ovarian cancer in women with endometriosis: a meta-analysis. *Br J Cancer*, 110, 1878-90.
- KIM, J. Y., TAVARE, S. & SHIBATA, D. 2005. Counting human somatic cell replications: methylation mirrors endometrial stem cell divisions. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102, 17739-44.
- KIM, S. J., CHOI, S. H., WON, S., SHIM, S., LEE, N., KIM, M., KIM, M. K., SEONG, S. J. & KIM, M. L. 2022. Cumulative Recurrence Rate and Risk Factors for Recurrent Abdominal Wall Endometriosis after Surgical Treatment in a Single Institution. *Yonsei Med J*, 63, 446-451.
- KISTNER, R. W., SIEGLER, A. M. & BEHRMAN, S. J. 1977. Suggested classification for endometriosis: relationship to infertility. *Fertil Steril*, 28, 1008-10.
- KITAWAKI, J., NOGUCHI, T., AMATSU, T., MAEDA, K., TSUKAMOTO, K., YAMAMOTO, T., FUSHIKI, S., OSAWA, Y. & HONJO, H. 1997. Expression of aromatase cytochrome P450 protein and messenger ribonucleic acid in human endometriotic and adenomyotic tissues but not in normal endometrium. *Biol Reprod*, 57, 514-9.
- KOK, V. C., TSAI, H. J., SU, C. F. & LEE, C. K. 2015. The Risks for Ovarian, Endometrial, Breast, Colorectal, and Other Cancers in Women With Newly Diagnosed Endometriosis or Adenomyosis: A Population-Based Study. *Int J Gynecol Cancer*, 25, 968-76.
- KOKCU, A. 2013. Possible effects of endometriosis-related immune events on reproductive function. *Arch Gynecol Obstet*, 287, 1225-33.
- KOŁODZIEJ, A., KRAJEWSKI, W., DOŁOWY, L. & HIRNLE, L. 2015. Urinary Tract Endometriosis. *Urol J*, 12, 2213-7.
- KONINCKX, P. R., USSIA, A., ADAMYAN, L., WATTIEZ, A., GOMEL, V. & MARTIN, D. C. 2019. Pathogenesis of endometriosis: the genetic/epigenetic theory. *Fertil Steril*, 111, 327-340.
- LAC, V., VERHOEF, L., AGUIRRE-HERNANDEZ, R., NAZERAN, T. M., TESSIER-CLOUTIER, B., PRAETORIUS, T., ORR, N. L., NOGA, H., LUM, A., KHATTRA, J., PRENTICE, L. M., CO, D., KOBEL, M., MIJATOVIC, V., LEE, A. F., PASTERNAK, J., BLEEKER, M. C., KRAMER, B., BRUCKER, S. Y., KOMMOSS, F., KOMMOSS, S., HORLINGS, H. M., YONG, P. J., HUNTSMAN, D. G. & ANGLÉSIO, M. S. 2019. Iatrogenic endometriosis harbors somatic cancer-driver mutations. *Hum Reprod*, 34, 69-78.
- LAGANA, A. S., VITALE, S. G., SALMERI, F. M., TRIOLO, O., BAN FRANGEZ, H., VRTACNIK-BOKAL, E., STOJANOVSKA, L., APOSTOLOPOULOS, V., GRANESE, R. & SOFO, V. 2017. Unus pro omnibus, omnes pro uno: A novel, evidence-based, unifying theory for the pathogenesis of endometriosis. *Med Hypotheses*, 103, 10-20.
- LAO, X., CHEN, Z. & QIN, A. 2016. p53 Arg72Pro polymorphism confers the susceptibility to endometriosis among Asian and Caucasian populations. *Arch Gynecol Obstet*, 293, 1023-31.
- LEE, D. Y., LEE, J. Y., SEO, J. W., YOON, B. K. & CHOI, D. 2016. Gonadotropin-releasing hormone agonist with add-back treatment is as effective and

- tolerable as dienogest in preventing pain recurrence after laparoscopic surgery for endometriosis. *Arch Gynecol Obstet*, 294, 1257-1263.
- LEITLINIENPROGRAMM DGGG, O. U. S. 2018a. Expertenkonsens, Konsensusstärke +++.
- LEITLINIENPROGRAMM DGGG, O. U. S. 2018b. Konsensbasierte Empfehlung 3.E6 Expertenkonsens.
- LEITLINIENPROGRAMM DGGG, O. U. S. 2018c. Konsensbasierte Empfehlung E4 Konsensusstärke +++.
- LESSEY, B. A. 2011. Assessment of endometrial receptivity. *Fertil Steril*, 96, 522-9.
- LEVANDER, G. & NORMANN, P. 1955. The pathogenesis of endometriosis; an experimental study. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 34, 366-98.
- LU, X., LIN, F., FANG, H., YANG, X. & QIN, L. 2011. Expression of a putative stem cell marker Musashi-1 in endometrium. *Histol Histopathol*, 26, 1127-33.
- MA, L., XU, Y. L., DING, W. J., SHAO, H. F. & TENG, Y. C. 2015. Prognostic value of Musashi-1 in endometrioid adenocarcinoma. *Int J Clin Exp Pathol*, 8, 4564-72.
- MACER, M. L. & TAYLOR, H. S. 2012. Endometriosis and infertility: a review of the pathogenesis and treatment of endometriosis-associated infertility. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 39, 535-49.
- MATTHAI, C., HORVAT, R., NOE, M., NAGELE, F., RADJABI, A., VAN TROTSENBURG, M., HUBER, J. & KOLBUS, A. 2006. Oct-4 expression in human endometrium. *Mol Hum Reprod*, 12, 7-10.
- MEISSNER, K., SCHWEIZER-ARAU, A., LIMMER, A., PREIBISCH, C., POPOVICI, R. M., LANGE, I., DE ORIOL, B. & BEISSNER, F. 2016. Psychotherapy With Somatosensory Stimulation for Endometriosis-Associated Pain: A Randomized Controlled Trial. *Obstet Gynecol*, 128, 1134-1142.
- MENG, X., ICHIM, T. E., ZHONG, J., ROGERS, A., YIN, Z., JACKSON, J., WANG, H., GE, W., BOGIN, V., CHAN, K. W., THEBAUD, B. & RIORDAN, N. H. 2007. Endometrial regenerative cells: a novel stem cell population. *J Transl Med*, 5, 57.
- MEYER, R. 1919. Über den Stand der Frage der Adenomyositis, Adenomyome im allgemeinen und insbesondere über Adenomyositis seroepithelialis und Adenomyometritis sarcomatosa.
- MOLINS-CUBERO, S., RODRIGUEZ-BLANCO, C., OLIVA-PASCUAL-VACA, A., HEREDIA-RIZO, A. M., BOSCA-GANDIA, J. J. & RICARD, F. 2014. Changes in pain perception after pelvis manipulation in women with primary dysmenorrhea: a randomized controlled trial. *Pain Med*, 15, 1455-63.
- MONTGOMERY, G. W., NYHOLT, D. R., ZHAO, Z. Z., TRELOAR, S. A., PAINTER, J. N., MISSMER, S. A., KENNEDY, S. H. & ZONDERVAN, K. T. 2008. The search for genes contributing to endometriosis risk. *Hum Reprod Update*, 14, 447-57.
- MORI, M., MIYAMOTO, T., OHNO, S., MIYAKE, Y., SAKAGUCHI, T. & OHNO, E. 2012. Diagnostic utility of notch-1 immunocytochemistry in endometrial cytology. *Acta Cytol*, 56, 166-70.
- MORRISON, S. J., SHAH, N. M. & ANDERSON, D. J. 1997. Regulatory mechanisms in stem cell biology. *Cell*, 88, 287-98.
- MOVAHEDAN, A., MAJDI, M., AFSHARKHAMSEH, N., SAGHA, H. M., SAADAT, N. S., SHALILEH, K., MILANI, B. Y., YING, H. & DJALILIAN, A. R. 2012. Notch inhibition during corneal epithelial wound healing promotes migration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 53, 7476-83.
- MUZII, L., DI TUCCI, C., ACHILLI, C., DI DONATO, V., MUSELLA, A., PALAIA, I. & PANICI, P. B. 2016. Continuous versus cyclic oral contraceptives after laparoscopic excision of ovarian endometriomas: a systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol*, 214, 203-211.

- NAP, A. W., GROOTHUIS, P. G., DEMIR, A. Y., MAAS, J. W., DUNSELMAN, G. A., DE GOEIJ, A. F. & EVERS, J. L. 2003. Tissue integrity is essential for ectopic implantation of human endometrium in the chicken chorioallantoic membrane. *Hum Reprod*, 18, 30-4.
- NISENBLAT, V., BOSSUYT, P. M., FARQUHAR, C., JOHNSON, N. & HULL, M. L. 2016. Imaging modalities for the non-invasive diagnosis of endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev*, 2, CD009591.
- NNOAHAM, K. E., HUMMELSHOJ, L., WEBSTER, P., D'HOOGHE, T., DE CICCONE, F., DE CICCONE, C., JENKINSON, C., KENNEDY, S. H., ZONDERVAN, K. T. & WORLD ENDOMETRIOSIS RESEARCH FOUNDATION GLOBAL STUDY OF WOMEN'S HEALTH, C. 2011. Impact of endometriosis on quality of life and work productivity: a multicenter study across ten countries. *Fertil Steril*, 96, 366-373 e8.
- NOBLE, L. S., SIMPSON, E. R., JOHNS, A. & BULUN, S. E. 1996. Aromatase expression in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 81, 174-9.
- NOBLE, L. S., TAKAYAMA, K., ZEITOUN, K. M., PUTMAN, J. M., JOHNS, D. A., HINSHELWOOD, M. M., AGARWAL, V. R., ZHAO, Y., CARR, B. R. & BULUN, S. E. 1997. Prostaglandin E2 stimulates aromatase expression in endometriosis-derived stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab*, 82, 600-6.
- NOVENTA, M., SACCARDI, C., LITTA, P., VITAGLIANO, A., D'ANTONA, D., ABDULRAHIM, B., DUNCAN, A., ALEXANDER-SEFRE, F., ALDRICH, C. J., QUARANTA, M. & GIZZO, S. 2015. Ultrasound techniques in the diagnosis of deep pelvic endometriosis: algorithm based on a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*, 104, 366-83 e2.
- NUNLEY, W. C., JR. & KITCHIN, J. D., 3RD 1980. Congenital atresia of the uterine cervix with pelvic endometriosis. *Arch Surg*, 115, 757-8.
- PABALAN, N., JARJANAZI, H., CHRISTOFOLINI, D. M., BIANCO, B. & BARBOSA, C. P. 2017. Association of the protein tyrosine phosphatase non-receptor 22 polymorphism (PTPN22) with endometriosis: a meta-analysis. *Einstein (Sao Paulo)*, 15, 105-111.
- PACCHIAROTTI, A., CASERTA, D., SBRACIA, M. & MOSCARINI, M. 2011. Expression of oct-4 and c-kit antigens in endometriosis. *Fertil Steril*, 95, 1171-3.
- PAGLIARDINI, L., GENTILINI, D., SANCHEZ, A. M., CANDIANI, M., VIGANO, P. & DI BLASIO, A. M. 2015. Replication and meta-analysis of previous genome-wide association studies confirm vezatin as the locus with the strongest evidence for association with endometriosis. *Hum Reprod*, 30, 987-93.
- PALLA, V. V., KARAOLANIS, G., KATAFIGIOTIS, I. & ANASTASIOU, I. 2017. Ureteral endometriosis: A systematic literature review. *Indian J Urol*, 33, 276-282.
- PARASAR, P., OZCAN, P. & TERRY, K. L. 2017. Endometriosis: Epidemiology, Diagnosis and Clinical Management. *Curr Obstet Gynecol Rep*, 6, 34-41.
- PARAZZINI, F., ESPOSITO, G., TOZZI, L., NOLI, S. & BIANCHI, S. 2017. Epidemiology of endometriosis and its comorbidities. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 209, 3-7.
- PARK, J. H., DAHERON, L., KANTARCI, S., LEE, B. S. & TEIXEIRA, J. M. 2011. Human endometrial cells express elevated levels of pluripotent factors and are more amenable to reprogramming into induced pluripotent stem cells. *Endocrinology*, 152, 1080-9.
- PEARCE, C. L., TEMPLEMAN, C., ROSSING, M. A., LEE, A., NEAR, A. M., WEBB, P. M., NAGLE, C. M., DOHERTY, J. A., CUSHING-HAUGEN, K. L., WICKLUND, K. G., CHANG-CLAUDE, J., HEIN, R., LURIE, G., WILKENS, L. R., CARNEY, M. E., GOODMAN, M. T., MOYSICH, K., KJAER, S. K., HOGDALL, E., JENSEN, A., GOODE, E. L., FRIDLEY, B. L., LARSON, M. C., SCHILDKRAUT, J. M., PALMIERI, R. T., CRAMER, D. W., TERRY, K. L., VITONIS, A. F., TITUS, L. J., ZIOGAS, A., BREWSTER, W., ANTON-CULVER, H., GENTRY-MAHARAJ, A.,

- RAMUS, S. J., ANDERSON, A. R., BRUEGGMANN, D., FASCHING, P. A., GAYTHER, S. A., HUNTSMAN, D. G., MENON, U., NESS, R. B., PIKE, M. C., RISCH, H., WU, A. H., BERCHUCK, A. & OVARIAN CANCER ASSOCIATION, C. 2012. Association between endometriosis and risk of histological subtypes of ovarian cancer: a pooled analysis of case-control studies. *Lancet Oncol*, 13, 385-94.
- POTTEN, C. S. & LOEFFLER, M. 1990. Stem cells: attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties. Lessons for and from the crypt. *Development*, 110, 1001-20.
- PRIANISHNIKOV, V. A. 1978. A functional model of the structure of the epithelium of normal, hyperplastic and malignant human endometrium: a review. *Gynecol Oncol*, 6, 420-8.
- QI, S., ZHAO, X., LI, M., ZHANG, X., LU, Z., YANG, C., ZHANG, C., ZHANG, H. & ZHANG, N. 2015. Aberrant expression of Notch1/numb/snail signaling, an epithelial mesenchymal transition related pathway, in adenomyosis. *Reprod Biol Endocrinol*, 13, 96.
- REDWINE, D. B. 2002. Diaphragmatic endometriosis: diagnosis, surgical management, and long-term results of treatment. *Fertil Steril*, 77, 288-96.
- REI, C., WILLIAMS, T. & FELONEY, M. 2018. Endometriosis in a Man as a Rare Source of Abdominal Pain: A Case Report and Review of the Literature. *Case Rep Obstet Gynecol*, 2018, 2083121.
- REMMELE, W. & STEGNER, H. E. 1987. [Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue]. *Pathologe*, 8, 138-40.
- RILEY, K. A., BENTON, A. S., DEIMLING, T. A., KUNSELMAN, A. R. & HARKINS, G. J. 2019. Surgical Excision Versus Ablation for Superficial Endometriosis-Associated Pain: A Randomized Controlled Trial. *J Minim Invasive Gynecol*, 26, 71-77.
- RIZK, B., FISCHER, A. S., LOTFY, H. A., TURKI, R., ZAHED, H. A., MALIK, R., HOLLIDAY, C. P., GLASS, A., FISHEL, H., SOLIMAN, M. Y. & HERRERA, D. 2014. Recurrence of endometriosis after hysterectomy. *Facts Views Vis Obgyn*, 6, 219-27.
- RODDA, D. J., CHEW, J. L., LIM, L. H., LOH, Y. H., WANG, B., NG, H. H. & ROBSON, P. 2005. Transcriptional regulation of nanog by OCT4 and SOX2. *J Biol Chem*, 280, 24731-7.
- ROWLAND, B. D., BERNARDS, R. & PEEPER, D. S. 2005. The KLF4 tumour suppressor is a transcriptional repressor of p53 that acts as a context-dependent oncogene. *Nat Cell Biol*, 7, 1074-82.
- ROY, D., MORGAN, M., YOO, C., DEORAJ, A., ROY, S., YADAV, V. K., GAROUB, M., ASSAGGAF, H. & DOKE, M. 2015. Integrated Bioinformatics, Environmental Epidemiologic and Genomic Approaches to Identify Environmental and Molecular Links between Endometriosis and Breast Cancer. *Int J Mol Sci*, 16, 25285-322.
- RUAN, Y. Q., LIANG, W. G. & HUANG, S. H. 2015. Analysis of laparoscopy on endometriosis patients with high expression of CA125. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 19, 1334-7.
- S3-LEITLINIE 2015. Indikation und Methodik der Hysterektomie bei benignen Erkrankungen.
- SALAMANCA, A. & BELTRAN, E. 1995. Subendometrial contractility in menstrual phase visualized by transvaginal sonography in patients with endometriosis. *Fertil Steril*, 64, 193-5.
- SAMPSON, J. A. 1927. Metastatic or Embolic Endometriosis, due to the Menstrual Dissemination of Endometrial Tissue into the Venous Circulation. *Am J Pathol*, 3, 93-110 43.

- SCHLIEP, K. C., CHEN, Z., STANFORD, J. B., XIE, Y., MUMFORD, S. L., HAMMOUD, A. O., BOIMAN JOHNSTONE, E., DORAIS, J. K., VARNER, M. W., BUCK LOUIS, G. M. & PETERSON, C. M. 2017. Endometriosis diagnosis and staging by operating surgeon and expert review using multiple diagnostic tools: an inter-rater agreement study. *BJOG*, 124, 220-229.
- SHARGHI, M., MANSURKHANI, S. M., LARKY, D. A., KOOTI, W., NIKSEFAT, M., FIROOZBAKHT, M., BEHZADIFAR, M., AZAMI, M., SERVATYARI, K. & JOUYBARI, L. 2019. An update and systematic review on the treatment of primary dysmenorrhea. *JBRA Assist Reprod*, 23, 51-57.
- SHIGESI, N., KVASKOFF, M., KIRTLEY, S., FENG, Q., FANG, H., KNIGHT, J. C., MISSMER, S. A., RAHMIOGLU, N., ZONDERVAN, K. T. & BECKER, C. M. 2019. The association between endometriosis and autoimmune diseases: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*, 25, 486-503.
- SHOSTAK, S. 2006. (Re)defining stem cells. *Bioessays*, 28, 301-8.
- SIGNORILE, P. G., BALDI, F., BUSSANI, R., D'ARMIENTO, M., DE FALCO, M. & BALDI, A. 2009. Ectopic endometrium in human foetuses is a common event and sustains the theory of mullerianosis in the pathogenesis of endometriosis, a disease that predisposes to cancer. *J Exp Clin Cancer Res*, 28, 49.
- SIMONS, B. D. & CLEVERS, H. 2011. Strategies for homeostatic stem cell self-renewal in adult tissues. *Cell*, 145, 851-62.
- SIMPSON, J. L. & BISCHOFF, F. Z. 2002. Heritability and molecular genetic studies of endometriosis. *Ann N Y Acad Sci*, 955, 239-51; discussion 293-5, 396-406.
- SIMPSON, J. L., ELIAS, S., MALINAK, L. R. & BUTTRAM, V. C., JR. 1980. Heritable aspects of endometriosis. I. Genetic studies. *Am J Obstet Gynecol*, 137, 327-31.
- SINAI, N., CLEARY, S. D., BALLWEG, M. L., NIEMAN, L. K. & STRATTON, P. 2002. High rates of autoimmune and endocrine disorders, fibromyalgia, chronic fatigue syndrome and atopic diseases among women with endometriosis: a survey analysis. *Hum Reprod*, 17, 2715-24.
- SIU, M. K., WONG, E. S., KONG, D. S., CHAN, H. Y., JIANG, L., WONG, O. G., LAM, E. W., CHAN, K. K., NGAN, H. Y., LE, X. F. & CHEUNG, A. N. 2013. Stem cell transcription factor NANOG controls cell migration and invasion via dysregulation of E-cadherin and FoxJ1 and contributes to adverse clinical outcome in ovarian cancers. *Oncogene*, 32, 3500-9.
- SOLIMAN, A. M., YANG, H., DU, E. X., KELLEY, C. & WINKEL, C. 2016. The direct and indirect costs associated with endometriosis: a systematic literature review. *Hum Reprod*, 31, 712-22.
- SOMIGLIANA, E., VIGANO, P., PARAZZINI, F., STOPPELLI, S., GIAMBATTISTA, E. & VERCELLINI, P. 2006. Association between endometriosis and cancer: a comprehensive review and a critical analysis of clinical and epidemiological evidence. *Gynecol Oncol*, 101, 331-41.
- STERNECKERT, J., HOING, S. & SCHOLER, H. R. 2012. Concise review: Oct4 and more: the reprogramming expressway. *Stem Cells*, 30, 15-21.
- STURLESE, E., SALMERI, F. M., RETTO, G., PIZZO, A., DE DOMINICI, R., ARDITA, F. V., BORRIELLI, I., LICATA, N., LAGANA, A. S. & SOFO, V. 2011. Dysregulation of the Fas/FasL system in mononuclear cells recovered from peritoneal fluid of women with endometriosis. *J Reprod Immunol*, 92, 74-81.
- SYMONS, L. K., MILLER, J. E., KAY, V. R., MARKS, R. M., LIBLIK, K., KOTI, M. & TAYADE, C. 2018. The Immunopathophysiology of Endometriosis. *Trends Mol Med*, 24, 748-762.
- TABIBZADEH, S., ZUPI, E., BABAKNIA, A., LIU, R., MARCONI, D. & ROMANINI, C. 1995. Site and menstrual cycle-dependent expression of proteins of the tumour necrosis factor (TNF) receptor family, and BCL-2 oncoprotein and

- phase-specific production of TNF alpha in human endometrium. *Hum Reprod*, 10, 277-86.
- TACHIBANA, M., AMATO, P., SPARMAN, M., GUTIERREZ, N. M., TIPPNER-HEDGES, R., MA, H., KANG, E., FULATI, A., LEE, H. S., SRITANAUDOMCHAI, H., MASTERSON, K., LARSON, J., EATON, D., SADLER-FREDD, K., BATTAGLIA, D., LEE, D., WU, D., JENSEN, J., PATTON, P., GOKHALE, S., STOUFFER, R. L., WOLF, D. & MITALIPOV, S. 2013. Human embryonic stem cells derived by somatic cell nuclear transfer. *Cell*, 153, 1228-38.
- TAKAESU, Y., NISHI, H., KOJIMA, J., SASAKI, T., NAGAMITSU, Y., KATO, R. & ISAKA, K. 2016. Dienogest compared with gonadotropin-releasing hormone agonist after conservative surgery for endometriosis. *J Obstet Gynaecol Res*, 42, 1152-8.
- TAKAHASHI, K. & YAMANAKA, S. 2006. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 126, 663-76.
- TAYLOR, H. S., GIUDICE, L. C., LESSEY, B. A., ABRAO, M. S., KOTARSKI, J., ARCHER, D. F., DIAMOND, M. P., SURREY, E., JOHNSON, N. P., WATTS, N. B., GALLAGHER, J. C., SIMON, J. A., CARR, B. R., DMOWSKI, W. P., LEYLAND, N., ROWAN, J. P., DUAN, W. R., NG, J., SCHWEFEL, B., THOMAS, J. W., JAIN, R. I. & CHWALISZ, K. 2017. Treatment of Endometriosis-Associated Pain with Elagolix, an Oral GnRH Antagonist. *N Engl J Med*, 377, 28-40.
- VAN SINDEREN, M., CUMAN, C., GAMAGE, T., RAINCZUK, K., OSIANLIS, T., ROMBAUTS, L. & DIMITRIADIS, E. 2014. Localisation of the Notch family in the human endometrium of fertile and infertile women. *J Mol Histol*, 45, 697-706.
- VERCELLINI, P., DE GIORGI, O., AIMI, G., PANAZZA, S., UGLIETTI, A. & CROSIGNANI, P. G. 1997. Menstrual characteristics in women with and without endometriosis. *Obstet Gynecol*, 90, 264-8.
- VERCELLINI, P., VIGANO, P., SOMIGLIANA, E. & FEDELE, L. 2014. Endometriosis: pathogenesis and treatment. *Nat Rev Endocrinol*, 10, 261-75.
- VETVICKA, V., LAGANA, A. S., SALMERI, F. M., TRIOLO, O., PALMARA, V. I., VITALE, S. G., SOFO, V. & KRALICKOVA, M. 2016. Regulation of apoptotic pathways during endometriosis: from the molecular basis to the future perspectives. *Arch Gynecol Obstet*, 294, 897-904.
- VICTORY, R., DIAMOND, M. P. & JOHNS, D. A. 2007. Villar's nodule: a case report and systematic literature review of endometriosis externa of the umbilicus. *J Minim Invasive Gynecol*, 14, 23-32.
- VILLA, G., MABROUK, M., GUERRINI, M., MIGNEMI, G., MONTANARI, G., FABBRI, E., VENTUROLI, S. & SERACCHIOLI, R. 2007. Relationship between site and size of bladder endometriotic nodules and severity of dysuria. *J Minim Invasive Gynecol*, 14, 628-32.
- VINATIER, D., ORAZI, G., COSSON, M. & DUFOUR, P. 2001. Theories of endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 96, 21-34.
- VITAGLIANO, A., NOVENTA, M., QUARANTA, M. & GIZZO, S. 2016. Statins as Targeted "Magical Pills" for the Conservative Treatment of Endometriosis: May Potential Adverse Effects on Female Fertility Represent the "Dark Side of the Same Coin"? A Systematic Review of Literature. *Reprod Sci*, 23, 415-28.
- VODOLAZKAIA, A., YESILYURT, B. T., KYAMA, C. M., BOKOR, A., SCHOLS, D., HUSKENS, D., MEULEMAN, C., PEERAER, K., TOMASSETTI, C., BOSSUYT, X., LAMBRECHTS, D., D'HOOGE, T. & FASSBENDER, A. 2016. Vascular endothelial growth factor pathway in endometriosis: genetic variants and plasma biomarkers. *Fertil Steril*, 105, 988-96.

- WACHARACHAWANA, S., PHALIWONG, P., PROMMAS, S., SMANCHAT, B., BHAMARAPRAVATANA, K. & SUWANNARURK, K. 2021. Recurrence Rate and Risk Factors for the Recurrence of Ovarian Endometriosis after Laparoscopic Ovarian Cystectomy. *Biomed Res Int*, 2021, 6679641.
- WEI, D., GONG, W., KANAI, M., SCHLUNK, C., WANG, L., YAO, J. C., WU, T. T., HUANG, S. & XIE, K. 2005. Drastic down-regulation of Kruppel-like factor 4 expression is critical in human gastric cancer development and progression. *Cancer Res*, 65, 2746-54.
- WILBUR, M. A., SHIH, I. M., SEGARS, J. H. & FADER, A. N. 2017. Cancer Implications for Patients with Endometriosis. *Semin Reprod Med*, 35, 110-116.
- WON, S., CHO, Y. J., LEE, N., KIM, M., KIM, M. K., JUNG, Y. W., YUN, B. S., SEONG, S. J., HUR, J. & KIM, M. L. 2020. Atypical endometriosis is related to a higher recurrence rate. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 254, 44-51.
- WU, D., HU, M., HONG, L., HONG, S., DING, W., MIN, J., FANG, G. & GUO, W. 2014. Clinical efficacy of add-back therapy in treatment of endometriosis: a meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*, 290, 513-23.
- XIN, L., HOU, Q., XIONG, Q. I. & DING, X. 2015. Association between matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 polymorphisms and endometriosis: A systematic review and meta-analysis. *Biomed Rep*, 3, 559-565.
- YANG, H., LIU, J., FAN, Y., GUO, Q., GE, L., YU, N., ZHENG, X., DOU, Y. & ZHENG, S. 2016. Associations between various possible promoter polymorphisms of MMPs genes and endometriosis risk: a meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 205, 174-88.
- YI, K., YANG, L., LAN, Z. & XI, M. 2016. The association between CYP19 polymorphism and endometriosis risk: a system review and meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 199, 42-8.
- YONG, P. J., MATWANI, S., BRACE, C., QUAIATTINI, A., BEDAIWY, M. A., ALBERT, A. & ALLAIRE, C. 2020. Endometriosis and Ectopic Pregnancy: A Meta-analysis. *J Minim Invasive Gynecol*, 27, 352-361 e2.
- ZAFRAKAS, M., GRIMBIZIS, G., TIMOLOGOU, A. & TARLATZIS, B. C. 2014. Endometriosis and ovarian cancer risk: a systematic review of epidemiological studies. *Front Surg*, 1, 14.
- ZHENG, Q., MAO, H., XU, Y., ZHAO, J., WEI, X. & LIU, P. 2016. Can postoperative GnRH agonist treatment prevent endometriosis recurrence? A meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*, 294, 201-7.
- ZONDERVAN, K., CARDON, L., DESROSIERS, R., HYDE, D., KEMNITZ, J., MANSFIELD, K., ROBERTS, J., SCHEFFLER, J., WEEKS, D. E. & KENNEDY, S. 2002. The genetic epidemiology of spontaneous endometriosis in the rhesus monkey. *Ann N Y Acad Sci*, 955, 233-8; discussion 293-5, 396-406.
- ZORBAS, K. A., ECONOMOPOULOS, K. P. & VLAHOS, N. F. 2015. Continuous versus cyclic oral contraceptives for the treatment of endometriosis: a systematic review. *Arch Gynecol Obstet*, 292, 37-43.

6 ANHANG

6.1 Auswertung der Daten mit SPSS

- **Legende Abbildungen:**
 - Auswertung A / Final Score A = Bewertung der Färbungen durch Doktorandin Anna Henn
 - Auswertung V / Final Score V = Bewertung der Färbungen durch Zweitauswerterin Dr. med. Vera Hepp (Fachärztin für Gynäkologie und Geburtshilfe)
 - Auswertung AV / Final Score AV = $(\text{Final Score A} + \text{Final Score V}) / 2$
- **Versuchsdesign:**

unabhängige Gruppen (between subject design) =
Zwischensubjektvergleich
→ Eine Gruppe hat eine Gruppierungsvariable

 - Bedingung: *Diagnose (N80.1, N80.3,...)* = unabhängige Variable UV
 - Outcome: *Final IRS Score (1, 2,...)* = abhängige Variable AV
- **Skalenniveau:**
 - UV: Nominalskala
 - Aussage: Gleichheit
 - AV: Ordinalskala
 - Aussage: Rangfolge
 - $A=B, A \neq B, A > B, A < B$
 - AV nicht intervallskaliert, da zwischen den einzelnen Kategorien kein gleicher Abstand besteht
 - $d=A-B$ nicht möglich
 - AV ist zusammengesetzt aus $A \times B$
 - A: Percentage of positive cells (Anteil)
 - 0 0
 - 1 <10%
 - 2 <50%
 - 3 <80%
 - 4 >80%→ Ordinalskala
 - B: Staining intensity (Intensität)
 - 0 no colour reaction
 - 1 mild reaction
 - 2 moderate reaction
 - 3 intense reaction→ Ordinalskala
 - Final IRS Score ($A \times B$)
 - 0-1 negative
 - 2-3 mild
 - 4-8 moderate

- 9-12 strongly positive
→ Ordinalskala

- **Parametrische Tests:**
 - Nur anwendbar bei intervallskalierten und normalverteilten Daten
- **Nonparametrische Tests:**
 - Keine speziellen Anforderungen an das Skalenniveau oder die Verteilung der Daten → ermöglicht die Analyse nominal- und ordinalskalierter Variablen oder auch nicht normalverteilter Daten

Tests auf Normalverteilung

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistik	df	Signifikanz	Statistik	df	Signifikanz
Final Score (AxB) A	,165	304	,000	,932	304	,000
Final Score (AxB) V	,270	304	,000	,826	304	,000
(Final Score A + Final Score V) / 2	,112	304	,000	,961	304	,000

- Prüfung der Normalverteilungsannahme:
 - Kolmogorov-Smirnov-Test oder Shapiro-Wilks-Test (sensitiver)
 - a. Signifikanzkorrektur nach Lilliefors
- Interpretation: *Signifikanz < 0.5 → es gibt einen signifikanten Unterschied zwischen der vorliegenden Verteilung und der Normalverteilung*
- *Daten sind NICHT normalverteilt, Normalverteilung wäre gegeben bei $p > 0.5$*

- **Deskriptive Datenauswertung:**
 - **Maß zentraler Tendenz** bei Ordinalskala: Median Mdn
 - Werte werden aufsteigend sortiert und der Wert mit dem $((n+1) / 2)$. Rang ist der Median
 - Auch als 50. Perzentil bezeichnet. Der Wert teilt die Stichprobe in zwei Hälften: 50% der Stichprobe haben Werte kleiner gleich dem Median und 50% haben Werte größer gleich dem Median
 - **Streuungsmaße** bei Ordinalskala:
 - Interquartilsabstand IQR
 - Differenz zwischen dem 25. Und 75. Perzentil, d.h. die Hälfte der Stichprobe fällt in diesen Bereich
 - 25. Perzentil = 1. Quartil
 - 25% der Werte sind kleiner oder gleich diesem Wert und 75% liegen darüber
 - 75. Perzentil = 3. Quartil

- 75% der Werte sind kleiner oder gleich diesem Wert und 25% liegen darüber
- **5-Punkte-Zusammenfassung der Daten nach Tukey:**
 - Boxplot
 - 25., 50., 75. Perzentil
 - Minimum, Maximum, Ausreißer (Kreis) und Extremwerte (Stern)
 - Ausreißer:
 - Wert < 1. Quartil – 1.5xIQR
 - Wert > 3. Quartil + 1.5xIQR
 - Extremwerte:
 - Wert < 1. Quartil – 3xIQR
 - Wert > 3. Quartil + 3xIQR

Deskriptive Statistiken - Häufigkeiten:

Statistiken

		Final Score (AxB) A	Final Score (AxB) V	(Final Score A + Final Score V) / 2
N	Gültig	304	304	304
	Fehlend	21	21	21
Median		6,00	2,00	4,000
Perzentile	25	4,00	1,00	2,500
	50	6,00	2,00	4,000
	75	8,00	3,00	5,500

Final Score (AxB) A

		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	negative	8	2,5	2,6	2,6
	mild	38	11,7	12,5	15,1
	mild	24	7,4	7,9	23,0
	moderate	60	18,5	19,7	42,8
	moderate	83	25,5	27,3	70,1
	moderate	27	8,3	8,9	78,9

	strongly positive	44	13,5	14,5	93,4
	strongly positive	20	6,2	6,6	100,0
	Gesamt	304	93,5	100,0	
Fehlend	System	21	6,5		
Gesamt		325	100,0		

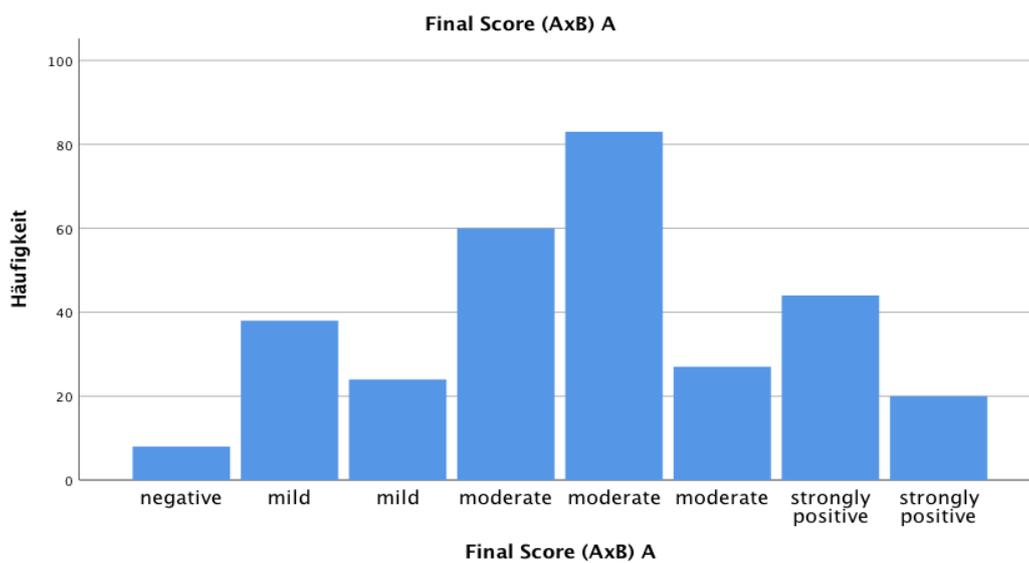
Final Score (AxB) V

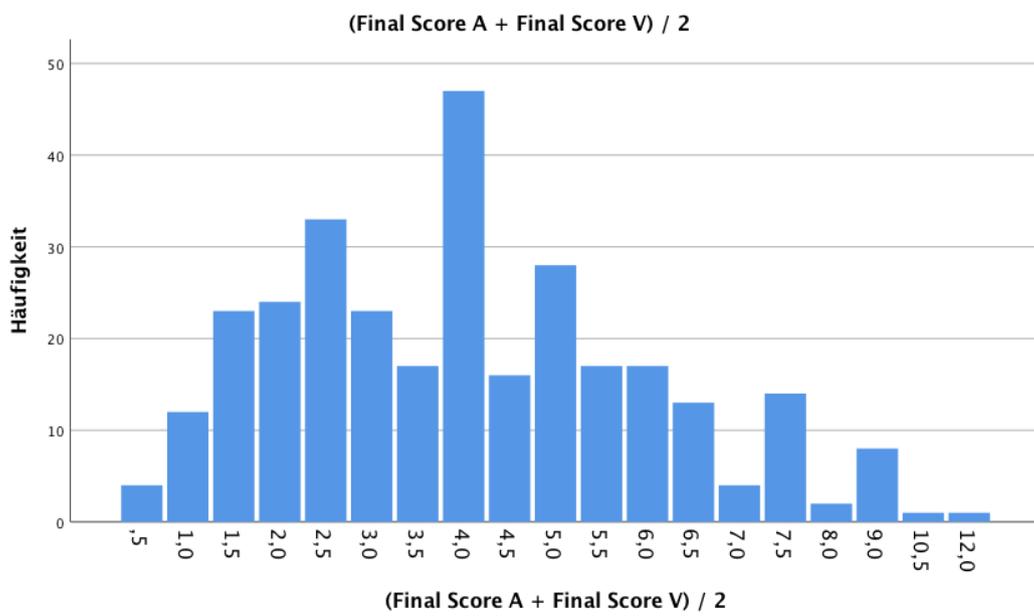
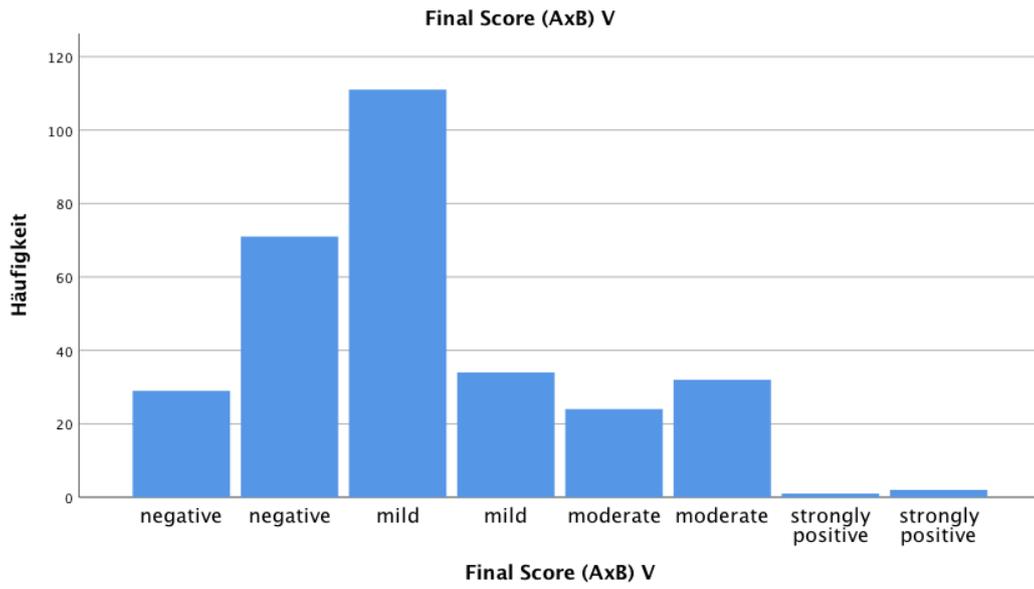
		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	negative	29	8,9	9,5	9,5
	negative	71	21,8	23,4	32,9
	mild	111	34,2	36,5	69,4
	mild	34	10,5	11,2	80,6
	moderate	24	7,4	7,9	88,5
	moderate	32	9,8	10,5	99,0
	strongly positive	1	,3	,3	99,3
	strongly positive	2	,6	,7	100,0
	Gesamt	304	93,5	100,0	
Fehlend	System	21	6,5		
Gesamt		325	100,0		

(Final Score A + Final Score V) / 2

		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	,5	4	1,2	1,3	1,3
	1,0	12	3,7	3,9	5,3
	1,5	23	7,1	7,6	12,8
	2,0	24	7,4	7,9	20,7

2,5		33	10,2	10,9	31,6
3,0		23	7,1	7,6	39,1
3,5		17	5,2	5,6	44,7
4,0		47	14,5	15,5	60,2
4,5		16	4,9	5,3	65,5
5,0		28	8,6	9,2	74,7
5,5		17	5,2	5,6	80,3
6,0		17	5,2	5,6	85,9
6,5		13	4,0	4,3	90,1
7,0		4	1,2	1,3	91,4
7,5		14	4,3	4,6	96,1
8,0		2	,6	,7	96,7
9,0		8	2,5	2,6	99,3
10,5		1	,3	,3	99,7
12,0		1	,3	,3	100,0
Gesamt		304	93,5	100,0	
Fehlend	System	21	6,5		
Gesamt		325	100,0		





Deskriptive Statistik – Explorative Datenanalyse:

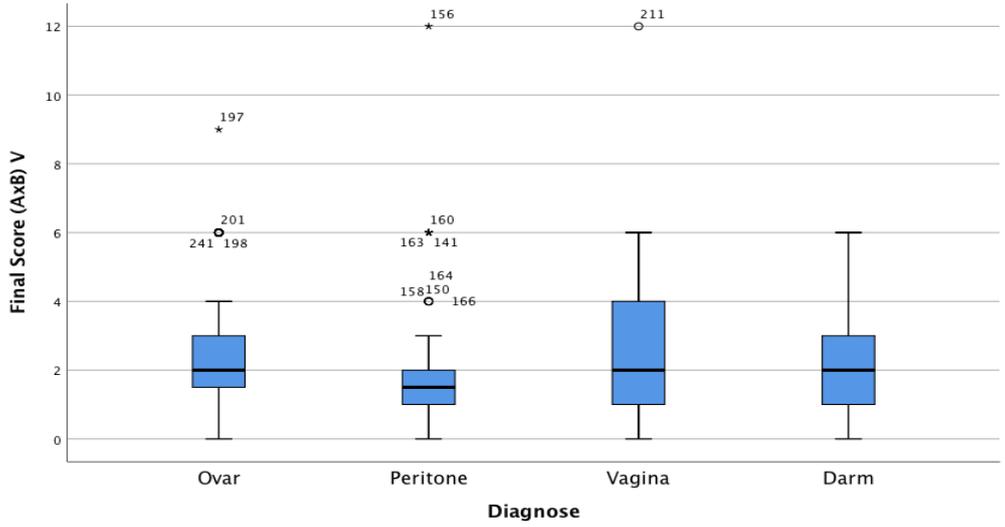
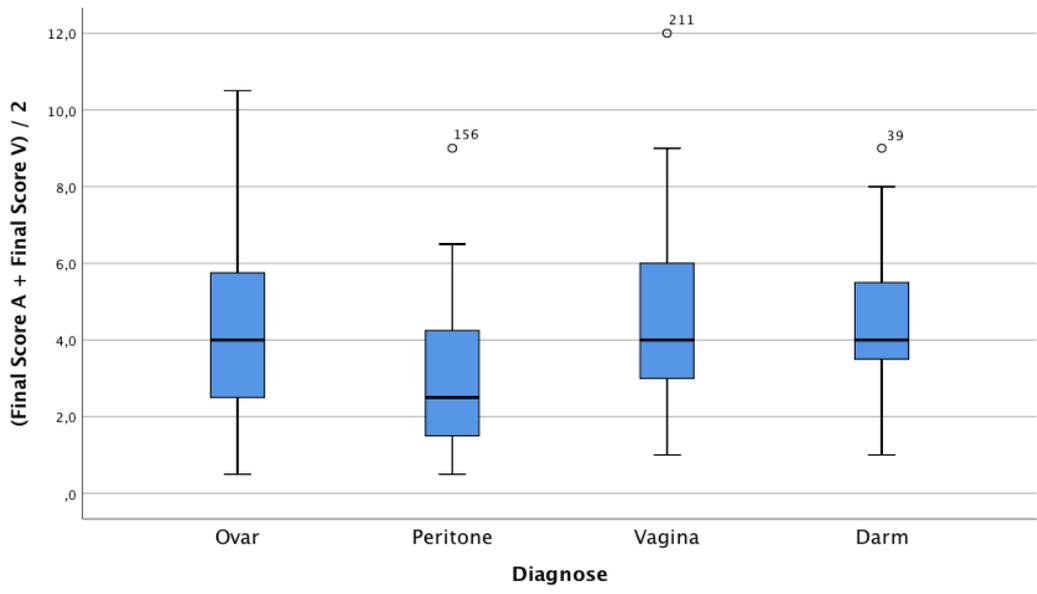
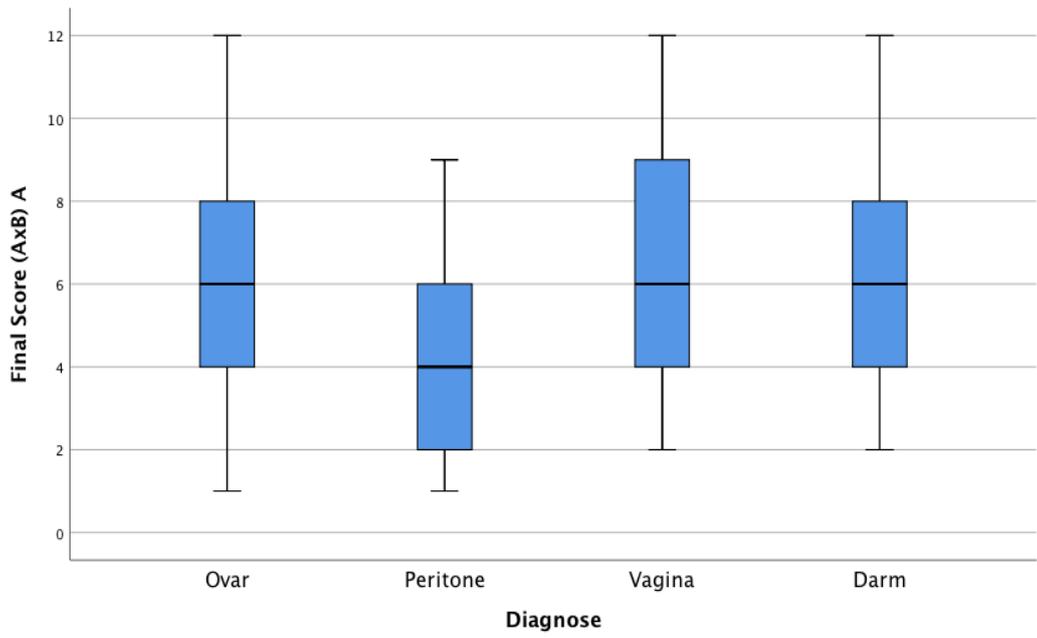
		Statistik	Standard Fehler	
Final Score (AxB) A	Mittelwert	5,74	,164	
	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	5,42	
		Obergrenze	6,07	
	5% getrimmtes Mittel	5,63		
	Median	6,00		
	Varianz	8,145		
	Standard Abweichung	2,854		
	Minimum	1		
	Maximum	12		
	Spannweite	11		
	Interquartilbereich	4		
	Schiefe	,439	,140	
	Kurtosis	-,507	,279	
	Final Score (AxB) V	Mittelwert	2,36	,106
95% Konfidenzintervall des Mittelwerts		Untergrenze	2,15	
		Obergrenze	2,56	
5% getrimmtes Mittel		2,23		
Median		2,00		
Varianz		3,431		
Standard Abweichung		1,852		
Minimum		0		
Maximum		12		
Spannweite		12		
Interquartilbereich		2		
Schiefe		1,669	,140	
Kurtosis		4,467	,279	
Mittelwert		4,049	,1171	

(Final Score A + Final Score V) / 2	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	3,819	
		Obergrenze	4,280	
	5% getrimmtes Mittel		3,959	
	Median		4,000	
	Varianz		4,168	
	Standard Abweichung		2,0415	
	Minimum		,5	
	Maximum		12,0	
	Spannweite		11,5	
	Interquartilbereich		3,0	
	Schiefe		,656	,140
	Kurtosis		,344	,279

Deskriptive Statistik

		Statistik	Standard Fehler	
Final Score (AxB) A	Mittelwert	5,74	,164	
	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	5,42	
		Obergrenze	6,07	
	5% getrimmtes Mittel	5,63		
	Median	6,00		
	Varianz	8,145		
	Standard Abweichung	2,854		
	Minimum	1		
	Maximum	12		
	Spannweite	11		
	Interquartilbereich	4		
	Schiefe	,439	,140	
	Kurtosis	-,507	,279	

Final Score (AxB) V	Mittelwert		2,36	,106
	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	2,15	
		Obergrenze	2,56	
	5% getrimmtes Mittel		2,23	
	Median		2,00	
	Varianz		3,431	
	Standard Abweichung		1,852	
	Minimum		0	
	Maximum		12	
	Spannweite		12	
	Interquartilbereich		2	
	Schiefe		1,669	,140
	Kurtosis		4,467	,279
	(Final Score A + Final Score V) / 2	Mittelwert		4,049
95% Konfidenzintervall des Mittelwerts		Untergrenze	3,819	
		Obergrenze	4,280	
5% getrimmtes Mittel			3,959	
Median			4,000	
Varianz			4,168	
Standard Abweichung			2,0415	
Minimum			,5	
Maximum			12,0	
Spannweite			11,5	
Interquartilbereich			3,0	
Schiefe			,656	,140
Kurtosis			,344	,279



Deskriptive Statistik^{a,b,c}

			Statistik	Standard Fehler		
oberflächlich, mittel, tief infiltrierend						
Final Score (AxB) A	mittel	Mittelwert	6,07	,235		
		95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	5,61		
			Obergrenze	6,54		
		5% getrimmtes Mittel		6,00		
		Median		6,00		
		Varianz		8,256		
		Standard Abweichung		2,873		
		Minimum		1		
		Maximum		12		
		Spannweite		11		
		Interquartilbereich		5		
		Schiefe		,375	,198	
		Kurtosis		-,552	,394	
		oberflä	Mittelwert	Mittelwert	4,11	,265
				95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	3,58
Obergrenze	4,63					
5% getrimmtes Mittel				4,01		
Median				4,00		
Varianz				5,349		
Standard Abweichung				2,313		
Minimum				1		
Maximum				9		
Spannweite				8		
Interquartilbereich				4		
Schiefe				,772	,276	

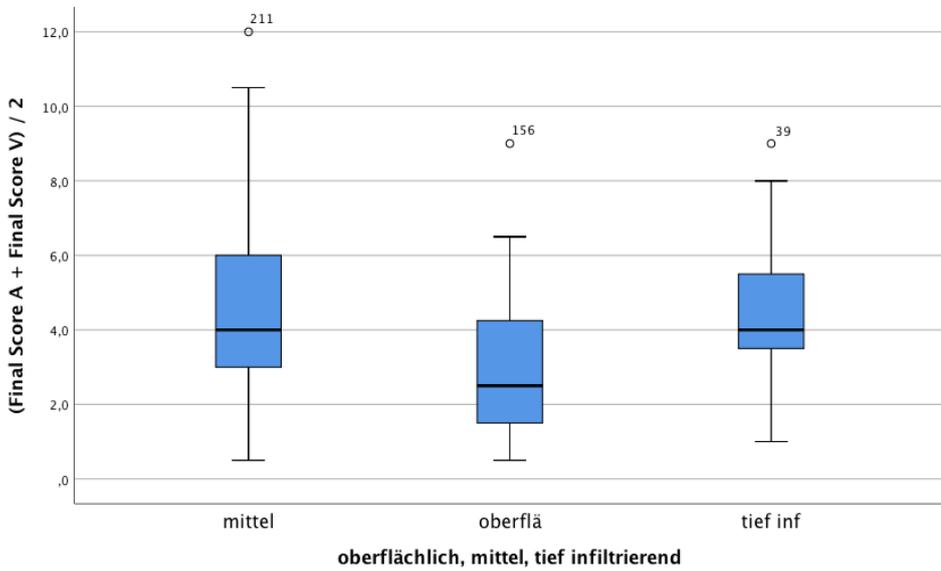
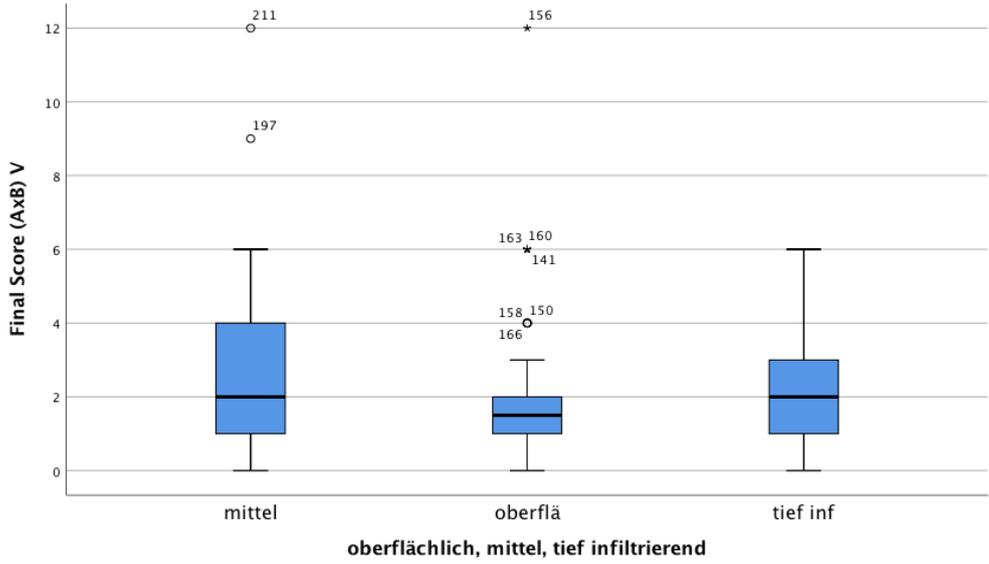
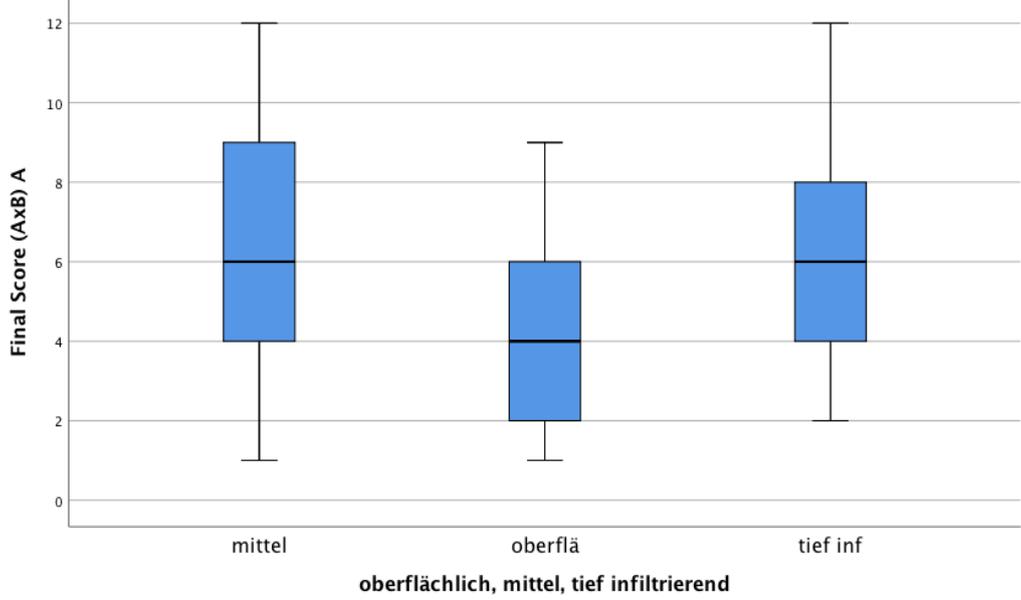
		Kurtosis	-,344	,545
tief inf		Mittelwert	6,71	,301
		95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze 6,11	
			Obergrenze 7,30	
		5% getrimmtes Mittel	6,66	
		Median	6,00	
		Varianz	7,068	
		Standard Abweichung	2,659	
		Minimum	2	
		Maximum	12	
		Spannweite	10	
		Interquartilbereich	4	
		Schiefe	,361	,272
		Kurtosis	-,388	,538
Final Score (AxB) V	mittel	Mittelwert	2,66	,162
		95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze 2,34	
			Obergrenze 2,98	
		5% getrimmtes Mittel	2,56	
		Median	2,00	
		Varianz	3,944	
		Standard Abweichung	1,986	
		Minimum	0	
		Maximum	12	
		Spannweite	12	
		Interquartilbereich	3	
		Schiefe	1,404	,198
		Kurtosis	2,719	,394

oberflä	Mittelwert		1,91	,215	
	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergre nze	1,48		
		Obergren ze	2,34		
	5% getrimmtes Mittel		1,70		
	Median		1,50		
	Varianz		3,498		
	Standard Abweichung		1,870		
	Minimum		0		
	Maximum		12		
	Spannweite		12		
	Interquartilbereich		1		
	Schiefe		2,774	,276	
	Kurtosis		11,03 4	,545	
	tief inf	Mittelwert		2,21	,163
		95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergre nze	1,88	
Obergren ze			2,53		
5% getrimmtes Mittel			2,12		
Median			2,00		
Varianz			2,061		
Standard Abweichung			1,436		
Minimum			0		
Maximum			6		
Spannweite			6		
Interquartilbereich			2		
Schiefe			,629	,272	
Kurtosis			,750	,538	
mittel		Mittelwert		4,367	,1782

(Final Score A + Final Score V) / 2	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	4,015		
		Obergrenze	4,719		
	5% getrimmtes Mittel		4,265		
	Median		4,000		
	Varianz		4,761		
	Standard Abweichung		2,181 9		
	Minimum		,5		
	Maximum		12,0		
	Spannweite		11,5		
	Interquartilbereich		3,1		
	Schiefe		,699	,198	
	Kurtosis		,354	,394	
	oberflä	Mittelwert		3,007	,1992
		95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	2,610	
			Obergrenze	3,403	
	5% getrimmtes Mittel		2,908		
	Median		2,500		
	Varianz		3,017		
	Standard Abweichung		1,736 8		
	Minimum		,5		
	Maximum		9,0		
	Spannweite		8,5		
	Interquartilbereich		2,9		
	Schiefe		,914	,276	
	Kurtosis		,465	,545	
tief inf	Mittelwert		4,455	,1899	

95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	4,077	
	Obergrenze	4,833	
5% getrimmtes Mittel		4,429	
Median		4,000	
Varianz		2,813	
Standard Abweichung		1,677 2	
Minimum		1,0	
Maximum		9,0	
Spannweite		8,0	
Interquartilbereich		2,0	
Schiefe		,302	,272
Kurtosis		,051	,538

- a. Es gibt keine gültigen Fälle für Final Score (AxB) A, wenn oberflächlich, mittel, tief infiltrierend = ,000 . Für dieses Niveau können keine Statistiken berechnet werden.
- b. Es gibt keine gültigen Fälle für Final Score (AxB) V, wenn oberflächlich, mittel, tief infiltrierend = ,000 . Für dieses Niveau können keine Statistiken berechnet werden.
- c. Es gibt keine gültigen Fälle für (Final Score A + Final Score V) / 2, wenn oberflächlich, mittel, tief infiltrierend = ,000 . Für dieses Niveau können keine Statistiken berechnet werden.



- Interferenzstatistik:

- Nullhypothese H_0
 - Kein Mittelwertsunterschied $H_0: M1-M2=0$
 - Kein Zusammenhang $H_0: r=0$
 - Identische Verteilungen $H_0: \text{Verhältnis}=1$
- Alternativhypothese H_A
 - Kein Mittelwertsunterschied $H_A: M1-M2 \neq 0$
 - Kein Zusammenhang $H_A: r \neq 0$
 - Identische Verteilungen $H_A: \text{Verhältnis} \neq 1$

→ Alle statistischen Tests basieren auf dem Prinzip des Nullhypotesentestens

- Hypothesen können nur widerlegt, nie bestätigt werden
 - Daher immer Nullhypothese widerlegen

→ Meine Nullhypothese H_0 :

Es gibt keinen Unterschied zwischen den verschiedenen von Endometriose betroffenen Organen hinsichtlich ihrer Stammzellmarker-Expression, welche durch die IHC Färbung nachgewiesen und mittels IRS Score objektiviert wurde.

- Signifikanzniveau:
 - Mit dem gewählten Signifikanzniveau legt man fest, ab welcher Wahrscheinlichkeit p man die Nullhypothese zugunsten der Alternativhypothese ablehnt
 - Meist $0.05 = 5\%$
 - Interpretation, wenn $p > 0.05$:
 - Die Daten passen zur Nullhypothese, denn die Wahrscheinlichkeit solche Daten zu finden ist größer als $5\% \rightarrow$ nicht signifikant
 - Interpretation, wenn $p < 0.05$:
 - Die Daten passen nicht zur Nullhypothese, denn die Wahrscheinlichkeit solche Daten zu finden ist kleiner $5\% \rightarrow$ signifikant

→ Die Bedeutsamkeit eines Effekts wird nicht durch die Größe des p -Wertes bestimmt

- Statistische Zusammenhangsmaße

- Spearman-Rangkorrelation
 - Sonderfall der Pearson-Korrelation für ordinalskalierte Daten
 - Der Spearman-Rangkorrelationskoeffizient r_s bildet monoton steigende oder fallende Zusammenhänge ab
 - Zusammenhänge müssen nicht linear sein
 - *CAVE: Diagnose ist nicht ordinal- sondern nominalskaliert!*
 - Umwandlung nötig z.B. Score für leicht-, mittel-, tiefinfiltrierende Endometriose
 - erwarteter Zusammenhang wäre eine positive lineare Korrelation
 - „Je tiefer infiltrierend, desto stärker angefärbt“ (dazu Ausgabe von Streudiagrammen möglich)

Statistische Zusammenhänge – Spearman-Rangkorrelation:

			Korrelationen			
			von oberflächlich bis tief infiltrierend	Final Score (AxB) A	Final Score (AxB) V	(Final Score A + Final Score V) / 2
Spearman-Rho	von oberflächlich bis tief infiltrierend	Korrelationskoeffizient	1,000	,329**	,141*	,281**
		Sig. (2-seitig)	.	,000	,014	,000
		N	315	304	304	304
	Final Score (AxB) A	Korrelationskoeffizient	,329**	1,000	,528**	,938**
		Sig. (2-seitig)	,000	.	,000	,000
		N	304	304	304	304
	Final Score (AxB) V	Korrelationskoeffizient	,141*	,528**	1,000	,763**
		Sig. (2-seitig)	,014	,000	.	,000
		N	304	304	304	304
	(Final Score A + Final Score V) / 2	Korrelationskoeffizient	,281**	,938**	,763**	1,000
		Sig. (2-seitig)	,000	,000	,000	.
		N	304	304	304	304

** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

* Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

- Interpretation:

- Bei den 304 bewerteten Final Scores in **Auswertung A** zeigte sich ein moderater signifikanter Zusammenhang zwischen der tiefe der Infiltration und der Höhe des Final IRS Score; $r_s = .329$, $p < 0.01$ (2-seitig).
 - → „Je tiefer infiltrierend, desto höher der Final IRS Score“
- Bei den 304 bewerteten Final Scores in **Auswertung V** zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen der tiefe der Infiltration und der Höhe des Final IRS Score; $r_s = .0141$, $p = 0.014$ (2-seitig). Auf dem 0,05 Niveau ist die Korrelation signifikant, da $p = 0.014$ (zweiseitig). Auf diesem Signifikanz-Niveau zeigte sich ein schwacher Zusammenhang.
- Beim **Mittelwert der Final Scores A und V** zeigte sich ein schwacher signifikanter Zusammenhang zwischen der tiefe der Infiltration und der Höhe des Final IRS Score; $r_s = .281$, $p < 0.01$ (2-seitig).
 - → „Je tiefer infiltrierend, desto höher der Final IRS Score“
- Zwischen den Ergebnissen der **Auswertung A** und der **Auswertung V** zeigte sich ein starker signifikanter Zusammenhang, $r_s = .528$, $p < 0.01$ (2-seitig).
 - → Die Bewertungs-Ergebnisse zwischen den beiden Auswertern A und V korrelieren positiv miteinander.

- Effektstärke:

- Korrelationskoeffizienten beschreiben die Richtung und die Stärke eines Zusammenhangs
- Einteilung anhand des Korrelationskoeffizienten
 - $|r_s| < .10$ kein / unbedeutender Zusammenhang

- $|r_s| < .30$ schwacher Zusammenhang
- $|r_s| < .50$ moderater Zusammenhang
- $|r_s| > .50$ starker Zusammenhang

- Allgemeines Effektstärkemaß R^2 = Quadrat des Korrelationskoeffizienten
- Effektstärkemaß R^2 – der Determinationskoeffizient
 - $R^2 < .01$ kein / unbedeutender Zusammenhang
 - $R^2 < .09$ schwacher Zusammenhang
 - $R^2 < .25$ moderater Zusammenhang
 - $R^2 > .25$ starker Zusammenhang
- Der Wert für R^2 gibt den Anteil aufgeklärter Varianz an.
- Bsp.: Ein Wert von $R^2 = .13$ entspricht einer Varianzaufklärung von 13%. D.h. 13% der Varianz der Werte in Variable A kann durch die Variable B aufgeklärt werden (und umgekehrt).

- Statistische Zusammenhangsmaße

- **Chi-Quadrat-Test:**
 - Theorem für stochastische Unabhängigkeit
 - Vergleich der Abweichung zwischen beobachteten und erwarteten Häufigkeiten
 - Nullhypothese: Beobachtete und erwartete Häufigkeiten sind identisch
 - Zusammenhänge zwischen nominalskalierten Variablen werden getestet
 - Weder Intervallskalierung noch Normalverteilung nötig
 - *CAVE: IRS Score ist nicht nominal- sondern ordinalskaliert!*
→ Umwandlung nötig z.B. IRS Score Klassen: *negative, mild, moderate, strongly positive*
 - Interpretation, wenn $p < .05$:
 - Es gibt einen signifikanten Zusammenhang
 - Beobachtete und erwartete Häufigkeiten weichen signifikant voneinander ab
 - Interpretation, wenn $p > .05$:
 - Es gibt keinen signifikanten Zusammenhang
 - Beobachtete und erwartete Häufigkeiten weichen nicht stark genug voneinander ab
 - Für die Effektstärke benötigt man hier die Effektstärkemaße **Phi und Cramers V** (zu interpretieren wie Korrelationen)

Statistische Zusammenhänge – Chi-Quadrat-Test:

Daten Auswertung A:

Diagnose * IRS_KategorienA Kreuztabelle

Diagnose	Ovar		IRS_KategorienA				Gesamt	
			mild	moderate	negative	strongly		
	Ovar	Anzahl	6	21	66	4	29	126
		Erwartete Anzahl	8,1	23,6	66,3	3,1	24,8	126,0
		% innerhalb von Diagnose	4,8%	16,7%	52,4%	3,2%	23,0%	100,0%
		% der Gesamtzahl	1,8%	6,5%	20,3%	1,2%	8,9%	38,8%
	Peritoneum	Anzahl	8	29	36	4	7	84
		Erwartete Anzahl	5,4	15,8	44,2	2,1	16,5	84,0
		% innerhalb von Diagnose	9,5%	34,5%	42,9%	4,8%	8,3%	100,0%
		% der Gesamtzahl	2,5%	8,9%	11,1%	1,2%	2,2%	25,8%
	Vagina	Anzahl	0	3	17	0	10	30
		Erwartete Anzahl	1,9	5,6	15,8	,7	5,9	30,0
		% innerhalb von Diagnose	0,0%	10,0%	56,7%	0,0%	33,3%	100,0%
		% der Gesamtzahl	0,0%	0,9%	5,2%	0,0%	3,1%	9,2%
	Darm	Anzahl	7	8	52	0	18	85
		Erwartete Anzahl	5,5	16,0	44,7	2,1	16,7	85,0
		% innerhalb von Diagnose	8,2%	9,4%	61,2%	0,0%	21,2%	100,0%
		% der Gesamtzahl	2,2%	2,5%	16,0%	0,0%	5,5%	26,2%
Gesamt	Anzahl	21	61	171	8	64	325	
	Erwartete Anzahl	21,0	61,0	171,0	8,0	64,0	325,0	
	% innerhalb von Diagnose	6,5%	18,8%	52,6%	2,5%	19,7%	100,0%	
	% der Gesamtzahl	6,5%	18,8%	52,6%	2,5%	19,7%	100,0%	

Chi-Quadrat-Tests

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (zweiseitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	37,571 ^a	12	,000
Likelihood-Quotient	41,779	12	,000
Anzahl der gültigen Fälle	325		

a. 5 Zellen (25,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist ,74.

Symmetrische Maße

	Wert	Näherungsweise Signifikanz
Nominal- bzgl. Nominalmaß	Phi	,340
	Cramer-V	,196
Anzahl der gültigen Fälle	325	

Daten Auswertung AV:

Diagnose * IRS_Kategorien_AV Kreuztabelle

			IRS_Kategorien_AV				Gesamt	
			mild	moderate	negative	strongly positive		
Diagnose	Ovar	Anzahl	6	37	65	12	6	126
		Erwartete Anzahl	8,1	34,9	64,0	15,1	3,9	126,0
		% innerhalb von Diagnose	4,8%	29,4%	51,6%	9,5%	4,8%	100,0%
		% der Gesamtzahl	1,8%	11,4%	20,0%	3,7%	1,8%	38,8%
	Peritoneum	Anzahl	8	28	24	23	1	84
		Erwartete Anzahl	5,4	23,3	42,6	10,1	2,6	84,0
		% innerhalb von Diagnose	9,5%	33,3%	28,6%	27,4%	1,2%	100,0%
		% der Gesamtzahl	2,5%	8,6%	7,4%	7,1%	0,3%	25,8%
	Vagina	Anzahl	0	11	16	1	2	30
		Erwartete Anzahl	1,9	8,3	15,2	3,6	,9	30,0
		% innerhalb von Diagnose	0,0%	36,7%	53,3%	3,3%	6,7%	100,0%
		% der Gesamtzahl	0,0%	3,4%	4,9%	0,3%	0,6%	9,2%
	Darm	Anzahl	7	14	60	3	1	85
		Erwartete Anzahl	5,5	23,5	43,2	10,2	2,6	85,0
		% innerhalb von Diagnose	8,2%	16,5%	70,6%	3,5%	1,2%	100,0%
		% der Gesamtzahl	2,2%	4,3%	18,5%	0,9%	0,3%	26,2%
Gesamt	Anzahl	21	90	165	39	10	325	
	Erwartete Anzahl	21,0	90,0	165,0	39,0	10,0	325,0	
	% innerhalb von Diagnose	6,5%	27,7%	50,8%	12,0%	3,1%	100,0%	
	% der Gesamtzahl	6,5%	27,7%	50,8%	12,0%	3,1%	100,0%	

Chi-Quadrat-Tests

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (zweiseitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	53,302 ^a	12	,000
Likelihood-Quotient	54,907	12	,000
Anzahl der gültigen Fälle	325		

a. 6 Zellen (30,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist ,92.

Symmetrische Maße

		Wert	Näherungsweise Signifikanz
Nominal- bzgl. Nominalmaß	Phi	,405	,000
	Cramer-V	,234	,000
Anzahl der gültigen Fälle		325	

- Interpretation:

- Bericht von Chi-Quadrat-Tests: $X^2(„df“) = „Chi-Quadrat nach Pearson“$, $p = „Asymptotische Signifikanz“$
→ **Auswertung A:**
 $X^2(12) = 37.571$, $p < 0.001$, $Cramers V = 0.196$, $Phi = 0.340$
→ **Auswertung AV:**
 $X^2(12) = 53.302$, $p < 0.001$, $Cramers V = 0.234$, $Phi = 0.405$
- Bei der **Auswertung A** gibt es einen schwachen signifikanten Zusammenhang zwischen dem betroffenen Organ und der Höhe des IRS Score in Klassen; $X^2(12) = 37.571$, $p < 0.001$, $Cramers V = 0.196$.
- Wenn man $Phi = 0.340$ als Effektstärkemaß verwendet, ist der Zusammenhang moderat signifikant.
→ „Der Anteil von Endometrioseläsionen mit einem hohen IRS-Score ist unter den Organen, die zur TIE zählen, signifikant größer, als unter den Organen, in denen keine TIE auftritt.“
- Bei der **Auswertung AV** gibt es einen schwachen signifikanten Zusammenhang zwischen dem betroffenen Organ und der Höhe des IRS-Score, in Klassen; $X^2(12) = 53.302$, $p < 0.001$, $Cramers V = 0.234$.
- Wenn man $Phi = 0.405$ als Effektstärkemaß verwendet, ist der Zusammenhang moderat signifikant.
→ „Der Anteil von Endometrioseläsionen mit einem hohen IRS-Score ist unter den Organen, die zur TIE zählen, signifikant größer, als unter den Organen, in denen keine TIE auftritt.“

- Mittelwertvergleiche

- **Mann-Whitney-U-Test**
 - Non-parametrisches Pendant zum t-Test für unabhängige Gruppen (anwendbar bei nicht intervallskalierten und nicht normalverteilten Daten)
 - Es wird geprüft, ob sich die mittleren Ränge von zwei unabhängigen Gruppen unterscheiden
 - Alle Werte aufsteigend sortiert, wobei jeder Wert einen Rang erhält
 - Für jede Gruppe wird die Rangsumme bestimmt
 - Aus der Rangsumme wird die Teststatistik U bzw. z berechnet
 - Höhere Rangsumme = höhere Werte (und umgekehrt)

Mittelwertvergleiche – Mann-Whitney-U-Test:

Mann-Whitney-Test

Ränge				
	Organ	N	Mittlerer Rang	Rangsumme
Final Score (AxB) A	3	76	56,78	4315,00
	5	78	97,69	7620,00
	Gesamt	154		
Final Score (AxB) V	3	76	68,61	5214,00
	5	78	86,17	6721,00
	Gesamt	154		
(Final Score A + Final Score V) / 2	3	76	59,76	4541,50
	5	78	94,79	7393,50
	Gesamt	154		

Statistik für Test^a

	Final Score (AxB) A	Final Score (AxB) V	(Final Score A + Final Score V) / 2
Mann-Whitney-U	1389,000	2288,000	1615,500
Wilcoxon-W	4315,000	5214,000	4541,500
Z	-5,787	-2,525	-4,899
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,000	,012	,000

a. Gruppenvariable: Organ

3 = Peritoneum/ oberflächliche Infiltration, 5 = Darm/ tiefe Infiltration

- Interpretation:

- Bericht: U = „Mann-Whitney-U“, z = „Z“, p= „Signifikanz (2-seitig)“
 - **Auswertung A:**
U = 1389.00 z = -5.787, p < 0.001 (2-seitig)
 - **Auswertung V:**
U = 2288.00 z = -2.525, p = 0.012 (2-seitig)
 - **Auswertung AV:**
U = 1615.50 z = -4.899, p < 0.001 (2-seitig)
- In **allen Auswertungen** ist der mittlere Rang des IRS Scores beim Darm höher als beim Peritoneum. In den **Auswertungen A und AV** sind zudem die Rangsummen des Darms höher als die des Peritoneums. Zudem ist der Unterschied dort signifikant. Für die Ergebnisse der **Auswertung V** liegt keine Signifikanz vor, bei p < 0.001. Auf dem 0.05 Niveau liegt eine Signifikanz vor, da p=0.012 (zweiseitig).

- - **Einfaktorielle Varianzanalysen**
 - **Kruskal Wallis Test**
 - Non-parametrisches Pendant zur einfaktoriellen ANOVA (between)
 - Grundidee: Abtrennung der Varianzanteile, die auf eine bestimmte Ursache (das „Treatment“) zurückgehen
 - Von dem Varianzanteil, der auf unbestimmte Ursachen („Fehler“) zurückzuführen ist
 - Logik der ANOVA: Wenn Treatment-Varianz größer ist als Fehler-Varianz, dann hat das Treatment einen Effekt
 - Betrachtet wird das Verhältnis zwischen Treatment- und Fehler-Varianz
- $F = \text{Treatment-Varianz} / \text{Fehlervarianz}$
- Post hoc Verfahren erlauben korrigierte Paarvergleiche, jedoch werden die Post hoc Tests bei non-parametrischen Tests NICHT automatisch berechnet!
 - Diese Paarvergleiche – Mann-Whitney-U-Tests – müssen manuell durchgeführt werden
 - Cave: Es muss eine manuelle Bonferroni-Korrektur, Korrektur des Signifikanzniveaus nicht der p-Werte, durchgeführt werden!
 - z.B. bei 10 Tests = $.05/10 = .005$

Einfaktorielle Varianzanalysen – Kruskal Wallis Test:

Kruskal-Wallis-Test

	Ränge		Mittlerer Rang
	Organ	N	
Final Score (AxB) A	1	120	157,35
	3	76	101,85
	4	30	184,73
	5	78	181,99
	Gesamt	304	
Final Score (AxB) V	1	120	166,92
	3	76	122,29
	4	30	161,20
	5	78	156,40
	Gesamt	304	
(Final Score A + Final Score V) / 2	1	120	160,75
	3	76	105,93
	4	30	177,95
	5	78	175,39
	Gesamt	304	

1 = Ovar, 3 = Peritoneum, 4 = Vagina, 5 = Darm

Statistik für Test^{a,b}

	Final Score (AxB) A	Final Score (AxB) V	(Final Score A + Final Score V) / 2
Kruskal-Wallis H	39,789	13,539	30,442
df	3	3	3
Asymptotische Signifikanz	,000	,004	,000

- a. Kruskal-Wallis-Test
b. Gruppenvariable: Organ

- Interpretation:

- Bericht wie Chi-Quadrat-Test:
 $X^2(„df“) = „Chi-Square“, p = „Asymp. Sig.“$
 → **Auswertung A:**
 $X^2(3) = 39.789, p < .001$
 → **Auswertung V:**
 $X^2(3) = 13.539, p: .004/4 = .001$ (Bonferroni-Korrektur)
 → **Auswertung AV:**
 $X^2(3) = 30.442, p < .001$
- *Es gibt einen signifikanten Unterschied zwischen verschiedenen Gruppen in den **Auswertungen A, V und AV**, aber ich weiß noch nicht zwischen welchen. Daher werden manuelle Paarvergleiche benötigt!*
 - *Diese könnten auch manuell mit Mann-Whitney-U durchgeführt werden.*

Auswertung A:

1 = Ovar, 3 = Peritoneum, 4 = Vagina, 5 = Darm

Statistik für Test^{a,b}

	Final Score (AxB) A	Final Score (AxB) V	(Final Score A + Final Score V) / 2
Kruskal-Wallis H	39,789	13,539	30,442
df	3	3	3
Asymptotische Signifikanz	,000	,004	,000

- a. Kruskal-Wallis-Test
b. Gruppenvariable: Organ

Zusammenfassung des Mediantests bei unabhängigen Stichproben

Gesamtzahl	304
Median	6,000
Teststatistik	19,050
Freiheitsgrad	3
Asymptotische Sig. (zweiseitiger Test)	,000

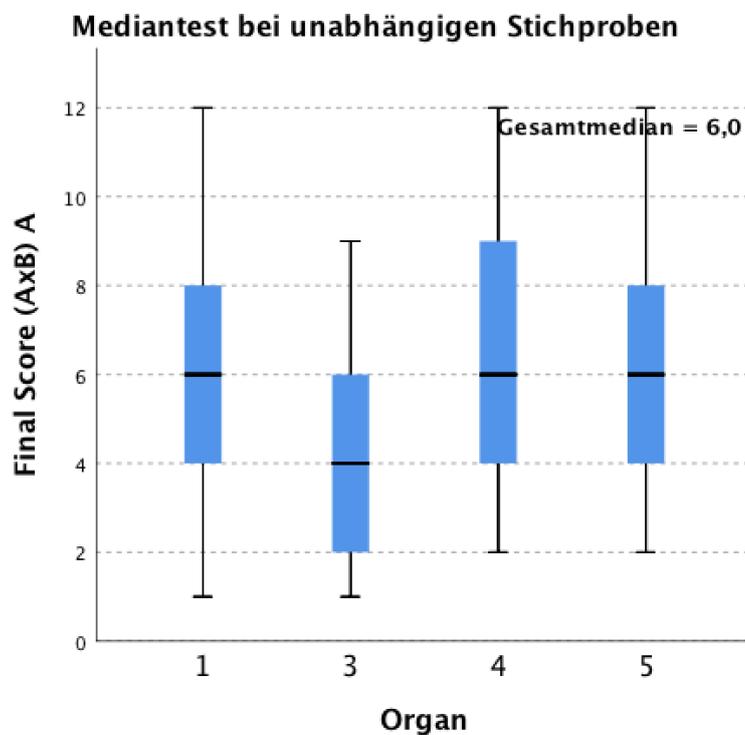
Paarweise Vergleiche von Organ

Sample 1-Sample 2	Teststatistik	Sig.	Korr. Sig. ^a
3-1	14,179	,000	,001
3-4	15,266	,000	,001
3-5	18,013	,000	,000
1-4	,917	,338	1,000
1-5	2,723	,099	,593
4-5	,047	,828	1,000

Jede Zeile prüft die Nullhypothese, dass die Verteilungen in Stichprobe 1 und Stichprobe 2 gleich sind.

Asymptotische Signifikanzen (zweiseitige Tests) werden angezeigt. Das Signifikanzniveau ist ,05.

- a. Signifikanzwerte werden von der Bonferroni-Korrektur für mehrere Tests angepasst.



Hypothesentestübersicht

	Nullhypothese	Test	Sig.	Entscheidung
1	Die Mediane von Final Score (AxB) A sind über die Kategorien von Organ identisch.	Mediantest bei unabhängigen Stichproben	,000	Nullhypothese ablehnen

Asymptotische Signifikanzen werden angezeigt. Das Signifikanzniveau ist ,050.

Auswertung V:

1 = Ovar, 3 = Peritoneum, 4 = Vagina, 5 = Darm

Zusammenfassung des Mediantests bei unabhängigen Stichproben

Gesamtzahl	304
Median	2,000
Teststatistik	10,641
Freiheitsgrad	3
Asymptotische Sig. (zweiseitiger Test)	,014

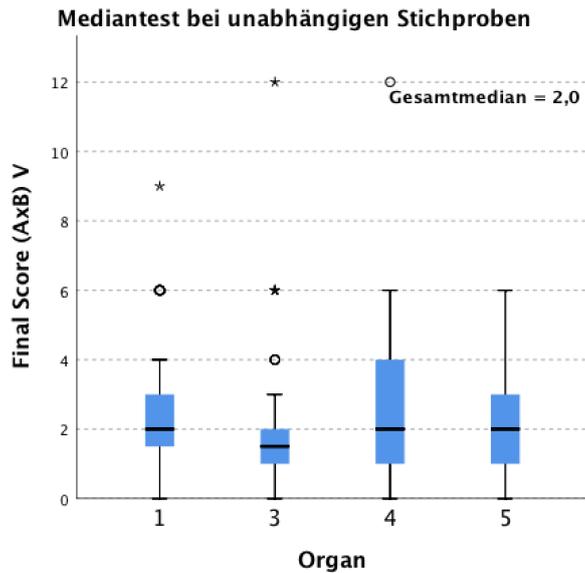
Paarweise Vergleiche von Organ

Sample 1-Sample 2	Teststatistik	Sig.	Korr. Sig. ^a
3-1	8,603	,003	,020
3-4	4,025	,045	,269
3-5	9,015	,003	,016
1-4	,029	,864	1,000
1-5	,098	,755	1,000
4-5	,139	,709	1,000

Jede Zeile prüft die Nullhypothese, dass die Verteilungen in Stichprobe 1 und Stichprobe 2 gleich sind.

Asymptotische Signifikanzen (zweiseitige Tests) werden angezeigt. Das Signifikanzniveau ist ,05.

- a. Signifikanzwerte werden von der Bonferroni-Korrektur für mehrere Tests angepasst.



Hypothesentestübersicht

	Nullhypothese	Test	Sig.	Entscheidung
1	Die Mediane von Final Score (AxB) V sind über die Kategorien von Organ identisch.	Mediantest bei unabhängigen Stichproben	,014	Nullhypothese ablehnen

Asymptotische Signifikanzniveaus werden angezeigt. Das Signifikanzniveau ist ,050.

Auswertung AV:

1 = Ovar, 3 = Peritoneum, 4 = Vagina, 5 = Darm

Zusammenfassung des Mediantests bei unabhängigen Stichproben

Gesamtzahl	304
Median	4,000
Teststatistik	10,302
Freiheitsgrad	3
Asymptotische Sig. (zweiseitiger Test)	,016

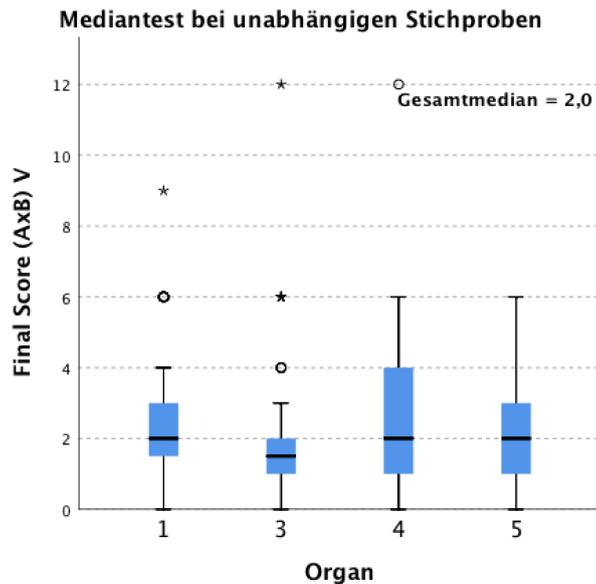
Paarweise Vergleiche von Organ

Sample 1-Sample 2	Teststatistik	Sig.	Korr. Sig. ^a
3-1	10,545	,001	,007
3-4	13,287	,000	,002
3-5	9,288	,002	,014
1-4	,245	,620	1,000
1-5	,952	,329	1,000
4-5	,037	,848	1,000

Jede Zeile prüft die Nullhypothese, dass die Verteilungen in Stichprobe 1 und Stichprobe 2 gleich sind.

Asymptotische Signifikanzniveaus (zweiseitige Tests) werden angezeigt. Das Signifikanzniveau ist ,05.

a. Signifikanzwerte werden von der Bonferroni-Korrektur für mehrere Tests angepasst.



Hypothesentestübersicht				
	Nullhypothese	Test	Sig.	Entscheidung
1	Die Mediane von (Final Score A + Final Score V) / 2 sind über die Kategorien von Organ identisch.	Mediantest bei unabhängigen Stichproben	,016	Nullhypothese ablehnen

Asymptotische Signifikanzniveaus werden angezeigt. Das Signifikanzniveau ist ,050.

→ In den paarweisen Vergleichen der Auswertungen A, V und AV zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen den Vergleichen von Peritoneum (3) und jedem anderen Organ (1, 4, 5) bei einem Signifikanzniveau von .05. Daher wird die Nullhypothese, dass es keinen Unterschied gibt, abgelehnt.

In der Auswertung V zeigte sich im Vergleich 3—4 nach der Bonferroni-Korrektur keine Signifikanz mehr. Bei den anderen Vergleichen jedoch weiterhin auf einem Niveau von .05.

Alle Daten wurden mit dem Programm IBM SPSS Statistics Version 26 für Windows analysiert.

6.2 Pathologiebefunde Präparate

Nr.	Eingangs- Nummer Präparat	Eingangs- datum	Zusammenfassung Pathologiebericht	ICD-10 Dia- gnose	Alter der Pat- ientin in Jahren
1.1	H 07950-16	23.03.2016	Zystenbalg linkes Ovar: Endometriosis genitalis externa.	N80.1	26
1.2	H 08873-16 Ia	05.04.2016	Ovar rechts: fragmentierte Anteile des Ovars mit kleinen serösen Zyste sowie einer partiell luteinisierten Follikelzyste neben Endometrioseherden.	N80.1	19
1.3	H 08873-16 Ib	05.04.2016	Ovar rechts: Fragmentierte Anteile des Ovars mit kleinen serösen Zyste sowie einer partiell luteinisierten Follikelzyste neben Endometrioseherden.	N80.1	19
1.4	H 09867-16 I	14.04.2016	Strichkürettage: Gering proliferierendes Endometrium. Außerdem unauffällige endocervicale Drüsen.	keine Endo- metriose aus Wertung ge- nommen	39
1.5	H 09867-16 II	14.04.2016	Ovarialzyste links: Endometriosezyste. Corticales, ovarielles Gewebe mit kleinen Follikelzysten.	N80.1	39

2.1	H 07692-16 II	21.03.2016	Zystenbalg rechtes Ovar: Anteile einer Endometriosezyste.	N80.1	38
2.2	H 10378-16 IIa	19.04.2016	Zystenbalg Ovar links: Endometriumzyste mit Residuen älterer Einblutungen.	N80.1	27
2.3	H 10378-16 IIb	19.04.2016	Zystenbalg Ovar links: Endometriumzyste mit Residuen älterer Einblutungen.	N80.1	27
2.4	H 05861-16 IVa	02.03.2016	Zystenbalg Ovar rechts: Eine maximal 3 cm im Durchmesser große, ältere Endometriosezyste.	N80.1	32
2.5	H 05861-16 IVb	02.03.2016	Zystenbalg Ovar rechts: Eine maximal 3 cm im Durchmesser große, ältere Endometriosezyste.	N80.1	32
3.1	H 09372-16	08.04.2016	Zystenbalg Ovar rechts: Anteile einer Endometriosezyste mit Residuen älterer Einblutungen.	N80.1	22
3.2	H 08512-16	31.03.2016	Zystenbalg linkes Ovar: Anteile einer älteren Endometriosezyste mit Residuen älterer Einblutungen.	N80.1	31
3.3	H 07132-16 II	15.03.2016	Zystenbalg rechtes Ovar: Zystenbalganteile einer Endometriosezyste.	N80.1	30
3.4	H 02357-16 II	27.01.2016	PE Beckenwand rechts: Bindegewebsexzidat mit einem Endometrioseherd.	N80.3	34

3.5	H 02357-16 I	27.01.2016	Zystenbalg Ovar links: Eine maximal 4 cm im Durchmesser große ältere Endometriosezyste.	N80.1	34
4.1	H 26038-11	29.08.2011	Vagina: Anteile einer Endometriosezyste mit umschriebenen Residuen älterer Einblutungen.	N80.4	27
4.2	H 25896-11 IIb	26.08.2011	Douglas-Excidat mit miterfasster Vagina (klinische Lokalisationsangabe). Ausgedehnte Endometriosis uteri externa.	N80.4	32
4.3	H 25896-11 IIa	26.08.2011	Douglas-Excidat mit miterfasster Vagina (klinische Lokalisationsangabe). Ausgedehnte Endometriosis uteri externa.	N80.4	32
4.4	H 25896-11 I	26.08.2011	Scheidenhinterwandexci date mit umschriebener Endometriosis uteri externa sowie leichter Plattenepithelhyperplasie .	N80.4	32
4.5	H 21073-12	23.07.2012	Endometriosis uteri externa (Ligamentum sacrouterina rechts nach klinischer Angabe).	N80.3	23
5.1	H 14048-11	2011	PE Beckenwand: Endometrioseherd	N80.3	
5.2	H 09049-16	06.04.2016	Sacto uteri ligamentum links: Fett- und Bindegewebe mit	N80.3	40

			umschrieben Endometrioseherden.		
5.3	H 33042-13	14.11.2013	Hochgradig fibrosiertes Fett-/Bindegewebe mit Anteilen Vagina (recto- vaginales Septum nach klinischer Angabe) mit Endometrioseherden.	N80.4	24
5.4	H 02821-10	29.01.2010	Anteile eines Endometriosezyste (Zystenbalg re. Ovar nach klinischer Angabe).	N80.1	32
5.5	H 23626-16	13.09.2016	Hintere Vaginalwand Resektat: Schleimhautresektate mit Endometriosis uteri externa und Residuen älterer Einblutungen.	N80.4	24
6.1	H 06232-16 II	07.03.2016	PE Beckenwand links: Endometriosis genitalis externa und Endometriosis extragenitalis.	N80.3	36
6.2	H 03519-16 I	09.02.2016	PE linke Beckenwand: Fibrosiertes Bindegewebe mit chronischer Entzündung und Endometrioseherd.	N80.3	25
6.3	H 07000-16 III	14.03.2016	Linke Seite sacro- uterines Ligamentum: Bindegewebe mit Endometrioseherden.	N80.3	33
6.4	H 07000-16 II	14.03.2016	Rechte Beckenwand: umschriebene Drüsenkomplexe mit umgebendem zellreichem Stroma. Darüber hinaus Blutungsresiduen. Somit	N80.3	33

			handelt es sich um einen Endometrioseherd.		
6.5	H 07000-16 I	14.03.2016	Rechte vordere Bauchwand: Fibrolipomatöses Gewebe mit Endometrioseherden.	N80.3	33
7.1	H 10407-15 IIIa	15.04.2015	Fibrosiertes Bindegewebe mit Endometriose (Ureter Nachresektat rechts nach klinischer Angabe).	N80.5	39
7.2	H 10407-15 IIIb	15.04.2015	Fibrosiertes Bindegewebe mit Endometriose (Ureter Nachresektat rechts nach klinischer Angabe).	N80.5	39
7.3	H 08479-16 III	31.03.2016	Peritoneum Beckenwand links: Bindegewebe mit umschriebenen Endometrioseherden.	N80.3	37
7.4	H 11170-15 IIa	22.04.2015	Exzidat Peritoneum (Fossa ovarica und Ligament sacrouteri links nach klinischer Angabe) mit Endometriosis uteri externa.	N80.3	24
7.5	H 11170-15 IIb	22.04.2015	Exzidat Peritoneum (Fossa ovarica und Ligament sacrouteri links nach klinischer Angabe) mit Endometriosis uteri externa.	N80.3	24
8.1	H 09731-16 V	13.04.2016	PE Beckenwand links: Fibrosiertes Fett- und Bindegewebe mit Endometrioseherden.	N80.3	41
8.2	H 11624-16	02.05.2016	PE Douglas Peritoneum: Fibrosiertes Fett- und Bindegewebe mit	N80.3	20

			umschriebenen Endometrioseherden.		
8.3	H 24469-15 IVc	04.09.2015	Rektumresektat mit ausgeprägter Endometriosis uteri externa im Bereich der Muscularis sowie nicht mehr frischen Einblutungen.	N80.5	51
8.4	H 24469-15 IVd	04.09.2015	Rektumresektat mit ausgeprägter Endometriosis uteri externa im Bereich der Muscularis sowie nicht mehr frischen Einblutungen.	N80.5	51
8.5	H 24469-15 IVe1	04.09.2015	Darüber hinaus drei Lymphknoten im angrenzenden Fettgewebe, jeweils ohne wesentlichen pathologischen Befund.	Keine Endometriose, aus der Wertung genommen	51
9.1	H 00707-11 le	11.01.2011	Resektat vom Uterus mit anhängendem Dickdarmteilresektat: Endometriosis uteri interna und externa mit Verwachsungen zwischen Rektum der Portio uteri, dem linken Ovar	N80.5	40
9.2	H 35775-10 IIa	23.12.2010	Rektosigmoidresektat (nach klinischer Angabe) mit Endometriosis uteri externa im Bereich der Muskularis sowie der Subserosa und hochgradiger Fibrose.	N80.5	36

9.3	H 35775-10 IIb1	23.12.2010	Rektosigmoidresektat (nach klinischer Angabe) mit Endometriosis uteri externa im Bereich der Muskularis sowie der Subserosa und hochgradiger Fibrose.	N80.5	36
9.4	H 35775-10 IIb2	23.12.2010	Rektosigmoidresektat (nach klinischer Angabe) mit Endometriosis uteri externa im Bereich der Muskularis sowie der Subserosa und hochgradiger Fibrose.	N80.5	36
9.5	H 35775-10 IIb3	23.12.2010	Rektosigmoidresektat (nach klinischer Angabe) mit Endometriosis uteri externa im Bereich der Muskularis sowie der Subserosa und hochgradiger Fibrose.	N80.5	36
10. 1	H 09331-16 IVc	08.04.2016	Zyste Ovar links: Anteile einer Corpus luteum- Zyste sowie Anteile einer Endometriosezyste.	N80.1	38
10. 2	H 09331-16 III	08.04.2016	Endometriose Ovar links: Fett- und Bindegewebe mit einer Endometriumzyste.	N80.1	38
10. 3	H 18529-10 IIb2	02.07.2010	Rektumteilresektat mit hochgradiger Endometriosis externa und umgebender Fibrose sowie Residuen älterer Einblutungen im Bereich des perirektalen Fettgewebes sowie der Muscularis propria.	N80.5	31
10. 4	H 18529-10 IIb1	02.07.2010	Rektumteilresektat mit hochgradiger	N80.5	31

			Endometriosis externa und umgebender Fibrose sowie Residuen älterer Einblutungen im Bereich des perirektalen Fettgewebes sowie der Muscularis propria.		
10.5	H 05861-16 III	2016	Zystenbalg Ovar: Endometriosezyste	N80.1	
11.1	H 09331-16 VIa	08.04.2016	PE Peritoneum rechts: Fett- und Bindegewebe mit umschriebenen Endometrioseherden.	N80.3	38
11.2	H 09331-16 VIb	08.04.2016	PE Peritoneum rechts: Fett- und Bindegewebe mit umschriebenen Endometrioseherden.	N80.3	38
11.3	H 09331-16 IVa1	08.04.2016	Zyste Ovar links: Anteile einer Corpus luteum-Zyste sowie Anteile einer Endometriosezyste.	N80.1	38
11.4	H 09331-16 IVa2	08.04.2016	Zyste Ovar links: Anteile einer Corpus luteum-Zyste sowie Anteile einer Endometriosezyste.	N80.1	38
11.5	H 09331-16 IVb	08.04.2016	Zyste Ovar links: Anteile einer Corpus luteum-Zyste sowie Anteile einer Endometriosezyste.	N80.1	38
12.1	1072-98		Endometriose des Darms	N80.5	
12.2	615-98		Endometriose des Darms	N80.5	
12.3	438-98		Endometriose des Darms	N80.5	
12.4	438-98		Endometriose des Darms	N80.5	

12. 5	1502-96		Endometriose des Darms	N80.5	
13. 1	1533-96		Endometriose des Ovars	N80.1	
13. 2	1505-96		Endometriose des Ovars	N80.1	
13. 3	1502-96		Endometriose des Ovars	N80.1	
13. 4	1443-97		Endometriose des Ovars	N80.1	
13. 5	1299-97		Endometriose des Ovars	N80.1	

6.3 Pathologiebefunde Positivkontrollen

Nr.	Eingangs-Nummer Präparat	Eingangs-datum	Zusammenfassung Pathologiebericht	Verwendet bei folgendem Antikörper
1	H30429-15 IIa	04.11.2015	Korpus-Abradat: Endometrioides Adenokarzinom, mittelgradig differenziert, G2.	Musashi1, Notch1
2	H32455-16 b2	16.12.2016	Plazentaparenchym zentral	KLF4
3	H04018-16 Ic1	12.02.2016	Rektum/Colon-Resektat mit einem 5cm im Durchmesser großen, mäßig differenzierten Adenokarzinom (G2) mit tiefer Infiltration der Lamina muscularis propria.	KLF4
4	H08747-17 IIg1	05.04.2017	Uterus mit maximal 1,5 cm im Durchmesser großen Infiltraten eines vordiagnostizierten mäßiggradig differenzierten, verhornenden Plattenepithelkarzinoms in der Zervix und einer maximalen Stromainvasionstiefe von 1,1 cm.	KLF4

5	H02547-16 Vc3	20.01.2015	Magen: Gastrektomiepräparat mit einem 4,5 cm im Durchmesser großen, mäßiggradig differenzierten, partiell schleimbildenden, teil tubulär, teils papillären Adenokarzinom, mit Infiltration der Muscularis propria.	Musashi1, Notch1
6	7787/00			Oct3/4
7	665/97			Oct3/4, Nanog

6.5 Material- und Geräteliste

Geräte

Mikrotom Leica RM 2255 (Geräte ID 018274), Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch

Streckbad-Platte-Kombination MEDAX 22721 (Geräte ID 018244), MEDAX GmbH & Co. KG Neumünster

Kühlplatte Leica EG 1150 C (Geräte ID 49036), Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch

Abzug WALDNER KLV 3 (Geräte ID 43017184), WALDNER Laboreinrichtungen GmbH & Co. KG, Wangen

Kühlschrank LIEBHERR KT 1830 (Geräte ID 43010055), Liebherr-International Deutschland GmbH, Biberach an der Riß (Temp. 3°C)

Gefrierschrank LIEBHERR (Geräte ID 51758), Liebherr-International Deutschland GmbH, Biberach an der Riß (Temp. -20°C)

Brutschrank Haraeus ST 5042 (Geräte ID 006202), Haraeus Holding GmbH, Hanau

Kochplatte Alaska (Geräte ID 52653), Alaska e.K., Viernheim

Schnellkochtopf Steinbach RR 22, 6l

Mikroskop Leitz Wetzlar Dialux 30 EB (Geräte ID 008382), Leica Microsystems GmbH, Wetzlar

Mikrotomklingen Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch

Objektträger MARIENFELD 0810000, Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, Lauda-Königshofen

Pipetten eppendorf verschiedene Größen, Eppendorf AG, Hamburg

Pipettenspitzen TipOne verschiedene Größen, STARLAB INTERNATIONAL GmbH, Hamburg

Liquid-Blocker Super Pap Pen, DAIDO SANGYO, Daido Sangyo Co., Tokyo

DAKO Cytomation Pen Firma DakoCytomation, Hamburg

Eppendorfgefäße Firma Sarstedt, Nümbrecht

Feuchteammer Firma DakoCytomation, Hamburg

pH Meter Seven Easy Firma Mettler Toledo, Giessen

Rüttler IKA-VIBRAX-VXR Firma IKA, Staufen

Waage PB 3002-S Firma Mettler Toledo, Giessen

Chemikalien

Citratpuffer Firma Merck, Darmstadt: Lösung B (0,1 mol Natriumcitrat) wird in 270ml Aqua dest. gegeben und dann wird mit Lösung A (0,1 mol Zitronensäure) der pH-Wert auf 6,0 eingestellt.

PBS Puffer Firma Merck, Darmstadt: Aus 41g NaCl, 11g di-Natriumhydrogenphosphat. Dihydrat, 2,75g Kaliumdihydrogenphosphat über 95% p. A. und 1l Aqua dest. wird eine Stammlösung hergestellt; mit Hilfe von NaOH und/oder HCl wird der pH-Wert auf 7,2 eingestellt. Die einmolare Gebrauchslösung besteht aus 1 Teil Stammlösung und 4 Teilen Aqua dest.

ABC- Elite Kit PK 6100 Standard Firma Vektor, Burlingame, USA: Ansatz in Tropffläschchen, 5ml PBS + 2 Tropfen A + 2 Tropfen B

Peroxidase-Substratkit -AEC Firma Biologo Dr. Hartmut Schultheiß, Kronhagen: 2 Komponenten, 5 Tropfen AEC auf 1500!! Substratpuffer Ch. B. AE20505 Art. Nr. AE002

Sekundärer Antikörper Firma Vector, Burlingame, USA: Universal Antikörper biotin anti-Maus/anti-Kaninchen made in Horse, 1:100 in PBS Lot Nr. 00415

Blockpuffer Firma Carl Roth, Karlsruhe 21µl Triton X + 1g BSA + 70ml PBS, BSA = Albumin Fraktion V Protease frei

5% Pferdeserum Firma Vector, Burlingame, USA: 75µl Pferdeserum + 1425µl Blockpuffer

0,3% H₂O₂ Firma Carl Roth Karlsruhe in eiskaltem Methanol (Firma Merck, Darmstadt): 50ml eiskaltes Methanol + 500µl 30% Wasserstoffperoxid

Glyceringelatine Firma Merck, Darmstadt Microscopy 100g in vitro

Tris-HCl Puffer Firma Carl Roth, Karlsruhe: Stammlösung aus 121,1g Tris-HCl, 58,4g NaCl und 1l Aqua dest. und pH 7,4 einstellen, Tris-HCl Gebrauchslösung: 100ml Stammlösung, 900ml Aqua dest. und 250!! Triton X

20% Essigsäure Firma Carl Roth, Karlsruhe: 160ml Aqua dest. und 40ml Essigsäure,

Fuchsin Firma DakoCytomation, Hamburg (Substrat – Chromogen System) Code Nr. K0625, 1 Tropfen Fuchsin activating agent und 1 Tropfen Fuchsin chromogen mischen und 1 min. Inkubieren, dann mit 587µl Buffered substrat mischen; Farbstoff, speziell für Immunkomplexe mit alkalischer Phosphatase

5% Blockpuffer 5g BSA (Albumin Fraktion V) in 100ml Tris-HCl Gebrauchslösung

APAAP, monoklonaler Antikörper Firma DakoCytomation, Hamburg Code Nr. D 0651, erzeugt in Maus, anti alkalische Phosphatase zum Gebrauch in der Immunhistochemie

EDTA Firma Merck, Darmstadt: 1mMolar, pH 8 Nr. 1.08418.0250

Triton X-100 Firma Sigma, St. Louis, Missouri, USA: Lot: 052K0024

BSA Firma Carl Roth, Karlsruhe Albumin Fraktion V Protease frei

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich allen beteiligten Personen meinen groß Dank aussprechen, die mich bei meiner Doktorarbeit unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt PD Dr. med. Ines Beyer für die Geduld und die hervorragende Betreuung der gesamten Arbeit.

Auch bedanke ich mich für die liebe Co-Betreuung bei PD Dr. med. Jessica Höll.

Für die Ermöglichung dieser Forschung gilt mein Dank Prof. Dr. med. Tanja Fehm und Dr. rer. nat. Dieter Niederacher, Leiter der Forschungslabore der Frauenklinik des Universitätsklinikums Düsseldorf im Life Science Center. Vielen Dank für die Vermittlung der Arbeit und dafür, dass ich das Labor nutzen durfte.

In dem Zusammenhang möchte ich mich herzlich bei Ursula Grolik bedanken, der medizinisch-technische Assistentin, die mich in die Labortätigkeit eingeführt hat und mir stets mit Rat und Tat bei meinen Experimenten zur Seite stand.

Desweiteren danke ich Dr. med. Vera Hepp für die gewissenhafte Zweitbegutachtung meiner Färbungen.

Zudem bedanke ich mich bei Frau Dr. med. Schumann und der Pathologie Düsseldorf für die Bereitstellung der Präparate.

Nicht zuletzt danke ich meiner Familie und meinem Ehemann für all die Ermutigungen. Danke, dass ihr immer an mich geglaubt habt.