

Aus der Klinik für Gynäkologie
Campus Benjamin Franklin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Untersuchungen zum Vorkommen von Endometrioseläsionen in
pelvinen Lymphknoten bei Patientinnen mit tief infiltrierender
Endometriose

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Miriam Weichbrodt

aus Berlin

Gutachter/in: 1. Priv.-Doz. Dr. med. S. Mechsner
2. Prof. Dr. Dr. Dr. h. c. A. D. Ebert
3. Prof. Dr. med. U. Ulrich

Datum der Promotion: 24.02.2012

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung	4
2. Einleitung und Zielsetzung	5
3. Methoden	7
4. Ergebnisse	10
4.1. Vorkommen von Endometriose in SLK	10
4.2. Vorkommen von Endometriose in zufällig entnommenen LK	11
4.3. Vergleich der Größe von Endometrioseläsionen in SLK und zufällig entnommenen LK	13
5. Diskussion	14
6. Literaturverzeichnis	18
7. Ausgewählte Publikationen und Anteilserklärung	21
8. Drei Publikationen als Promotionsleistung	
8.1. Estrogen and progesterone receptor positive endometriotic lesions and disseminated cells in pelvic sentinel lymph nodes of patients with deep infiltrating rectovaginal endometriosis: a pilot study.	22
8.2. Immunohistochemical evaluation of endometrial lesions and disseminated endometriosis-like cells in incidental lymph nodes of patients with endometriosis.	31
8.3. Ist die Sentinel-Lymphknotenmarkierung bei Patientinnen mit infiltrierender rectovaginaler Endometriose sinnvoll?	39
9. Lebenslauf	46
10. Vollständige Publikationsliste	48
11. Selbstständigkeitserklärung	51
12. Danksagung	52

1. Zusammenfassung

Die tief infiltrierende Endometriose (DIE) ist eine gutartige chronische Erkrankung, deren Pathomechanismus weitgehend ungeklärt ist. In aktuellen Studien konnten Endometrioseläsionen in mesorectalen Lymphknoten (LK) nach Darmteilresektionen nachgewiesen werden, jedoch ist unklar, ob es sich um ein lokales Phänomen oder eine systemische Ausbreitung der Erkrankung handelt. In der vorliegenden Arbeit wurden erstmals systematisch die LK von Patientinnen mit vorwiegend tief infiltrierender Endometriose auf das Vorkommen von Endometriose untersucht. Neben den bisher veröffentlichten Studien, die sich vorwiegend mit lokalen (mesorectalen) LK beschäftigt haben, wurden in dieser Arbeit erstmals Sentinel-Lymphknoten (SLK) auf das Vorkommen von Endometriose untersucht.

Die lokalen zufällig entnommenen LK und die SLK wurden immunhistochemisch mit Antikörpern gegen Östrogen- und Progesteronrezeptoren (ER/PR), CD-10 und Cytokeratin untersucht.

In den SLK und den zufällig entnommenen LK konnten sowohl voll ausgebildete Endometrioseläsionen als auch freie ER und PR-positive Zellen nachgewiesen werden. Die Endometrioseläsionen der SLK waren signifikant größer als in den zufällig entnommenen LK.

Das Vorkommen von Endometrioseläsionen und freien ER/PR-positiven Zellen, sowohl in SLK als auch in zufällig entnommenen LK, demonstriert eine lymphogene Ausbreitung und zeigt, dass es sich bei der Endometriose um eine systemische Erkrankung handelt. Das SLK-Konzept, speziell bei der tief infiltrierenden Endometriose, ist besser geeignet, die relevanten LK zu identifizieren und gleichzeitig gewebeschonend zu operieren. Die biologische Bedeutung dieser freien ER/PR-positiven Zellen und der Endometrioseläsionen in LK ist beim derzeitigen Forschungsstand jedoch noch unklar. In folgenden Langzeitbeobachtungen könnte die biologische Bedeutung von nodalen Endometrioseläsionen und das Rezidivrisiko der Patientinnen weiter evaluiert werden.

2. Einleitung

Die Endometriose ist durch das Vorkommen von Endometrium-ähnlichem Gewebe außerhalb des Cavum uteri definiert. Es handelt sich um eine an sich benigne, hormonabhängige Erkrankung, die häufig mit einem chronischen Verlauf einhergeht. Die Prävalenz wird auf 10–15 % aller Frauen im reproduktiven Alter geschätzt (Hutschenreiter 1996) und stellt damit eine der häufigsten gynäkologischen Erkrankungen dar (Guidice 2004).

Die charakteristischen Symptome der Endometriose sind Dysmenorrhoe, chronische Unterbauchschmerzen (zyklische und/oder azyklische), Dyspareunie, Dyschezie und/oder Dysurie sowie Infertilität. 60–80 % aller Frauen mit Unterleibsschmerzen und/oder Infertilität sind an Endometriose erkrankt (Koninckx 1991). Die Symptome und die Ausprägung der Schmerzen variieren erheblich und korrelieren nicht mit dem Ausmaß der Erkrankung (Jacobson 2009). Fertilitätsstörungen treten hingegen vor allem in ausgeprägten Stadien auf. Aufgrund der chronischen Schmerzen und der Infertilität ist die Lebensqualität der Patientinnen stark beeinträchtigt (Sepulcri 2009).

Im deutschsprachigen Raum wird die Endometriose entsprechend ihrer Lokalisation in Endometriosis genitalis interna (Adenomyosis uteri), Endometriosis genitalis externa (äußere Hüllen der inneren Genitalorgane) und Endometriosis extragenitalis (z.B. Darm, Blase) unterteilt. Eine Sonderform stellt die tief infiltrierende rektovaginale Endometriose dar. Im englischsprachigen Raum hingegen wird die Erkrankung nach Lokalisation der Manifestationen (peritoneale, ovarielle) und der Infiltrationstiefe (oberflächliche und tief infiltrierende Form) unterteilt.

Obwohl die Endometriose zu den gutartigen Erkrankungen zählt, weisen speziell die tief infiltrierenden Endometrioseformen (*Deep Infiltrating Endometriosis – DIE*) Wachstumseigenschaften wie Infiltration und Destruktion von angrenzenden Strukturen auf, wie sie sonst nur bei malignen Erkrankungen beobachtet werden können. Bei ca. 20–35 % der Frauen mit rektovaginaler DIE wächst die Endometriose in andere Organe und/oder anatomische Strukturen ein (Chapron 2003). Bevorzugt wird das Lig. sacrouterinum infiltriert, gefolgt von Colon sigmoidalis, Vagina und Harnleiter.

Trotz dieser infiltrierenden Wachstumsform ist die Entstehung von malignen Tumoren aus rektovaginalen Endometrioseläsionen selten und wurde nur in vereinzelten Fällen

beobachtet (Di Silvestro 1999). Frauen mit tief infiltrierender ovarieller Endometriose hingegen haben ein deutlich erhöhtes Risiko, ein Ovarial-Karzinom zu entwickeln (Van Gorp 2004). Allgemein besteht eine höhere Gefahr für an Endometriose erkrankte Frauen, ein Mamma-Karzinom oder ein Non-Hodgkin-Lymphom zu entwickeln (Melin 2006).

Der „Goldstandard“ in der Therapie der Endometriose besteht in der radikalen operativen Entfernung aller vorhandenen Endometrioseläsionen (Dubernard 2006, Garry 2000, Ford 2004). Dennoch liegt das Rezidivrisiko, auch nach radikaler Exzision aller vorhandenen Endometrioseläsionen, zwischen 7 % und 31 % (Schweppe 2004).

Die Pathogenese ist bisher ungeklärt. Es werden verschiedene Theorien zur Entstehung der Endometriose diskutiert. Da keine der Theorien für sich alleine die Entstehung der Endometriose erklären kann, wird von einem multifaktoriellen Vorgang ausgegangen. Zu den zwei bekanntesten Theorien zählen die Metaplasietheorie von R. Meyer und die Transplantationstheorie von J. A. Sampson. Meyer beschreibt die Entstehung der ektopen Läsionen als eine Umwandlung von pluripotenten Zellen des Coelomepithels in endometrioiden Zellen (Meyer 1919). Die Transplantationstheorie hingegen besagt, dass durch den retrograden Menstruationsfluss lebende Zellen in die Bauchhöhle gelangen und sich dort implantieren können. Des Weiteren diskutierte Sampson bereits 1927 die Möglichkeit der lymphatischen Ausbreitung und Ansammlung von Endometriose in anderen Organen (Sampson 1927). Über viele Jahre blieben die Überlegungen zu diesem möglichen Pathogeneseweg unbeachtet. In aktuellen Studien konnte das Vorkommen von Endometrioseläsionen in mesorektalen Lymphknoten (LK), die im Rahmen von Darmteilresektionen bei tief infiltrierender Endometriose mit entfernt wurden, gezeigt werden (Abrao 2006). Da weiterhin auch Lymphgefäße in den primären rektovaginalen Endometrioseläsionen nachweisbar waren, liegt die Vermutung nahe, dass es sich um eine lymphogene Ausbreitung handelt (Noel 2008).

Ziel dieser Arbeit war es, das Vorkommen von nodalen Endometrioseläsionen in LK systematisch zu analysieren. Weiterhin sollten neue Erkenntnisse über den Pathomechanismus der Endometriose gewonnen und insbesondere deren lymphatischer Ausbreitungsweg untersucht werden.

Das Sentinel-Lymphknoten (SLK)-Konzept ist ein etabliertes Verfahren, das zum Staging von Mamma- und Cervix-Karzinomen verwendet wird (Schneider 2007, Marnitz 2006). Es erlaubt die gezielte Entnahme und Untersuchung des markierten Wächter-LKs und stellt somit ein besonders gewebeschonendes Vorgehen dar. Dieses Verfahren wurde erstmals bei Patientinnen mit tief infiltrierender rektovaginaler Endometriose eingesetzt (1. Publikation). In einer zweiten Arbeit wurden systematisch auch zufällig entnommene regionale LK, die sich im Rahmen einer Darmteilresektion im Resektat befanden, ebenfalls auf das Vorkommen von Endometrioseeläsionen hin untersucht (2. Publikation). In einer weiteren Studie wurden die nodalen Endometrioseeläsionen der zufällig entnommenen LK mit denen der SLK verglichen (3. Publikation).

3. Methoden

Alle Patientinnen wurden aufgrund von Endometriose-assoziierten Beschwerden laparoskopiert oder laparotomiert. Alle Patientinnen waren prämenopausal. Die Zyklusphasen wurden basierend auf der letzten Menstruation am Operationstag festgelegt. Die Stadieneinteilung der Endometriose erfolgte nach der rASRM (Revised American Society for Reproduktion 1997) und der ENZIAN-Klassifikation (Tuttlies 2005). Patientinnen mit malignen Erkrankungen wurden von der Studie ausgeschlossen. Alle Patientinnen wurden gemäß der Ethikkommission der Charité aufgeklärt und waren einverstanden, an den Studien teilzunehmen.

Nachweis von Endometriose in Sentinel-Lymphknoten (1. Publikation).

Es wurden prospektiv 14 Patientinnen wegen symptomatischer tast- oder sichtbarer tief infiltrierender rektovaginaler Endometriose im Zeitraum zwischen Mai bis Dezember 2007 operiert. Die Frauen unterzogen sich einer laparoskopisch-assistierten vaginalen Resektion der rektovaginalen Endometriose. In Abhängigkeit von der Infiltrationstiefe der Darmwand wurde ggf. eine Darmteilresektion durchgeführt (Zanetti-Dallenbach 2008). Zur Markierung des SLK wurde zu Beginn der Operation während des vaginalen Teils 4 ml PatentBlau® in die sicht- und/oder tastbare Läsion injiziert. Anschließend

konnte bei der Laparoskopie der blau gefärbte SLK entnommen (Köhler 2004, Marnitz 2006) und histologisch untersucht werden.

Vorkommen von Endometrioseläsionen in zufällig entnommenen LK (2. Publikation)

Zusätzlich wurden retrospektiv 108 zufällig entnommene LK von 24 Patientinnen analysiert. Ein Datensuchlauf des pathologischen Archivs von Mai 2002 bis Februar 2008 ergab, dass bei 24 Patientinnen, die wegen Endometriose operiert wurden, sich 108 regionale LK im Resektionsgewebe befanden. Es handelte sich um mesorektale (n = 43), mesozökale (n = 34), parametrane (n = 13), inguinale (n = 3) und pelvine (n = 15) LK. Bei 6 von 24 Patientinnen wurden die LK aus verschiedenen anatomischen Regionen entnommen. Alle 108 LK wurden immunhistochemisch auf das Vorkommen von Endometriose untersucht. Jeweils der repräsentativste LK aus jeder entnommenen anatomischen Region wurde in die Statistik mit aufgenommen. Somit wurden 31 repräsentative LK von 24 Patientinnen befundet (bei 6 Patientinnen wurden aus mehreren anatomischen Regionen LK entnommen).

Immunhistochemische Untersuchungen

Zur Identifizierung von Endometriosezellen wurden neben der H&E-Färbung auch immunhistochemische Untersuchungen mit Antikörpern gegen Östrogen- (Klone 1d5 DAKO) (ER) und Progesteron-Rezeptoren (Klone PgR636 DAKO) (PR), die sowohl in endometrioiden Stroma- und Epithelzellen exprimiert werden (Fujishita 1997), durchgeführt. Zusätzlich wurden Untersuchungen mit dem endometrioiden Stromazellmarker CD-10 (Novacastra) und einem Epithelzellmarker Pancytokeratin 5, 6, 8, 17, 19 (Klone MNF 116 DAKO) vorgenommen. Für die Untersuchung der LK wurden Paraffinschnitte in 4–5 Serienschnitten verwendet.

Zur Beurteilung der Proliferationsrate wurde Ki-67 (Klone MIB-1) verwendet. Die immunhistochemische Färbung mit Ki-67 wurde von der Pathologie, CBF Charité, durchgeführt.

Als Kontrollgruppe wurden LK von 9 Patientinnen ohne Endometriose mitgeführt (Alter zwischen 22 und 49 Jahren, Median = 34). Es wurden mesorektale LK (n = 5), nuchale LK (n = 2) und pelvine LK (n = 2) verwendet.

Die SLK und die zufällig entnommenen LK wurden systematisch untersucht. Dafür wurde der LK in 3 Bereiche unterteilt: subcapsularer Sinus = S, superficialer Cortex = C und Medulla = M. In jeder Region wurden die positiven Zellen ausgezählt und in 3 Gruppen eingeteilt: +<50 Zellen, ++ 50–150 Zellen und +++>150 Zellen.

Intraoperativ und/oder anhand des Operationsprotokolls wurde die Größe des ursprünglichen primären rektovaginalen Endometrioseherdes festgelegt. Sie wurden in die Gruppen <1cm, 1–2cm, 2–3cm und >3 cm eingeteilt. Anschließend wurde die Größe des primären rektovaginalen Endometrioseherdes mit dem Vorkommen von nodalen freien ER- und PR- positiven Zellen und Endometrioseläsionen verglichen.

Vergleich der Endometrioseläsionen in SLK und zufällig entnommenen LK (3. Publikation)

Hierfür wurde der Zeitraum für die SLK-Entnahme bis zum Dezember 2007 erweitert. Somit konnten Endometrioseläsionen in 58 SLK von 18 Patientinnen mit 105 zufällig entnommenen LK von 23 Patientinnen verglichen werden. Da bei einer Patientin mit zufällig entnommenen LK nur inguinale LK vorlagen, wurden zur Bestimmung der Größe der Endometrioseläsionen nur 23 Patientinnen und nicht, wie oben beschrieben, 24 Patientinnen in die Bewertung eingeschlossen.

Die Größe der Endometrioseläsionen in den LK wurde mit der vorgehenden Messvorrichtung am Mikroskop (ZEISS, Typ Axiophot) ermittelt, indem der Durchmesser der Breite und der Länge ausgemessen wurde. Die Läsionen wurden einschließlich des umgebenden Stromas vermessen.

Statistische Auswertung

Der nicht parametrische Mann-Whitney-Test wurde zur Auswertung der Größe der Endometrioseläsionen verwendet.

4. Ergebnisse

Bei allen Patientinnen wurde die Endometriose histologisch gesichert. Die Endometrioseläsionen bestanden aus einem einreihigen hochprismatischen Epithel mit umgebendem zytogenem Stroma.

4.1. Vorkommen von Endometriose in SLK (1. Publikation)

Bei 11 von 13 Patientinnen und bei einer Patientin mit Adenomyosis uteri waren ein- oder beidseitig SLK angefärbt und konnten entnommen werden. Somit konnten von 12 Patientinnen insgesamt 18 SLK untersucht werden. Diese waren in der Region zwischen der A. iliaca interna und externa lokalisiert, was dem typischen lymphatischen Abflussgebiet der oberen Vagina entspricht (Tab. 1 Mechsner 2008/1. Publikation).

Bei 3 von 12 Patientinnen (25 %) und in 4 von 18 SLK (22,2 %) konnten typische Endometrioseläsionen mit Epithelzellen und umgebendem Stroma nachgewiesen werden. Die Läsionen waren Cytokeratin-, CD-10- und ER/PR-positiv.

Bei 10 von 12 Patientinnen (83,3 %) bzw. in 16 von 18 SLK (88,9 %) konnten neben den voll ausgebildeten Läsionen auch freie ER/PR-positive und CD10/Cytokeratin-negative Zellen nachgewiesen werden.

Sowohl in LK von Endometriosepatientinnen als auch in den Kontroll-LK fanden sich lediglich vereinzelt physiologisch vorkommende CD-10- und Cytokeratin-positive Zellen (Chan 2000, Cook 2003), ER/PR-positive Zellen konnten nicht nachgewiesen werden.

Ki-67 zeigte eine geringe Expression in allen LK. In den Endometrioseläsionen konnten vereinzelt positive Zellen beobachtet werden. Die ER/PR-positiven Zellen wiesen keine erhöhte proliferative Aktivität von Ki-67 auf.

In der Tabelle II (Mechsner 2008/1. Publikation) wird die Verteilung der freien ER/PR-positiven Zellen auf die jeweilige SLK-Region (subcapsularer Sinus = S, superficialer Cortex = C und Medulla = M) und die Verteilung der Endometrioseläsionen auf den jeweiligen SLK und die Patientin dargestellt.

Es bestand eine positive Korrelation zwischen der Größe des primären Endometrioseherdes und der Anzahl der freien ER/PR-positiven Zellen im SLK. Je größer der tief infiltrierende primäre rektovaginale Endometrioseherd, desto größer die Wahrscheinlichkeit, dass freie ER/PR-positive Zellen und Endometrioseläsionen im SLK vorkommen. (Tab. III Mechsner 2008/1. Publikation). Wenn die tief infiltrierende Darmendometriose einen Durchmesser größer als 2 cm aufwies, konnten bei 100 % ER- oder PR-positive Zellen und bei 50 % Endometrioseläsionen im SLK nachgewiesen werden. Bei rektovaginalen Endometrioseherden unter 2 cm Durchmesser konnten keine Endometrioseläsionen im LK gefunden werden.

4.2. Vorkommen von Endometriose in zufällig entnommenen LK (2. Publikation)

Von 24 Patientinnen konnten 108 zufällig entnommene LK untersucht werden. Bei 6 der 24 Patientinnen wurden die LK aus zwei oder mehreren anatomischen Regionen entnommen. Insgesamt wurden 43 mesorektale LK von 15 Patientinnen, 34 mesozökale LK von 5 Patientinnen, 15 pelvine LK von 5 Patientinnen, 13 parametranale LK von 3 Patientinnen und 3 inguinale LK von einer Patientin untersucht (Verteilung der LK siehe Tab. 2, Spalte A).

Bei 8 von 24 Patientinnen (33,3 %) und 9 LK von 108 LK (8,3 %) konnten vollständige Endometrioseläsionen gefunden werden. In 5 mesorektalen LK von 15 Patientinnen (33,3 %), 2 mesozökale LK von 5 Patientinnen (40 %), in 1 pelvinen LK von 5 Patientinnen (20 %) und in 1 parametranen LK von 3 Patientinnen (33,3 %) wurden Endometrioseläsionen gefunden. Die Verteilung auf die einzelnen Regionen ist in Tab. 2, Spalte B aufgeführt.

ER/PR-positive Zellen konnten bei 17 von 24 Patientinnen (70,8 %) in 46 von 108 LK (42,6 %) nachgewiesen werden.

Aus jeder entnommenen anatomischen Region wurde von jeder Patientin ein repräsentativer LK auf positive Zellen untersucht. Somit wurden 31 LK von 24 Patientinnen untersucht (bei 6 Patientinnen wurden aus mehreren anatomischen Regionen LK entnommen). In 21 der 31 LK konnten positive Zellen nachgewiesen werden. Von den 21 positiven LK waren davon 11 mesorektale LK von 15 Patientinnen,

3 mesozökale LK von 5 Patientinnen, 5 pelvine LK von 5 Patientinnen, 1 parametraner LK von 3 Patientinnen und 1 inguinaler LK von einer Patientin (Spalte C in Tab. 2). Die Verteilung der ER/PR-positiven Zellen und der Endometrioseläsionen auf alle LK ist in Spalte D bis F der Tab, 2 aufgeführt.

Tab. 2 (Mechsner 2009/2. Promotion): Analyse der zufällig entnommenen LK

Spalte	LK-Region	Mesorectal N (%)	Mesocoecal N (%)	Pelvine N (%)	Parametric N (%)	Inguinal N (%)
A	Verteilung der LK/Patientin N = 24*	15	5	5**	3	1
B	Anzahl LK mit EM-Läsion / Patientin*** 8/24 (33.3 %)	5 (33,3)	2 (40)	1 (20)	1 (33,3)	0
C	PR/ER-positive Zellen/ Patientinnen 17/24* (70,8 %) Verteilung der positiven LK (21/31)	11 (73,3)	3 (60)	5 (100)	1 (33,3)	1 (100)
D	Verteilung der LK N = 108	43	34	15	13	3
E	EM-Läsion 9/108 (8,3 %)	5 (11,6)	2 (5,9)	1 (6,7)	1 (7,7)	0 (0)
F	PR/ER-Rez. pos. LK 46/108 (42,6 %)	19 (44,2)	10 (29,4)	9 (60,0)	6 (46,2)	2 (66,7)

* 6 Patientinnen mit LKen von mehr als seiner anatomischen Region. Analysierte 31 LK von 24 Patientinnen.

**2 Patientinnen mit pelvinen LK von der rechten und linken Seite

***1 Patientin mit Endometrioseläsionen (EM-Läsionen) in 2 verschiedenen LK.

Es bestand auch bei den zufällig entnommenen LK ein Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von ER/PR-positiven Zellen bzw. Endometrioseläsionen und der Infiltrationstiefe der rektovaginalen Endometriose.

Bei 15 Patientinnen mit rektovaginaler Endometriose wurden mesorektale LK gefunden. Eine Patientin konnte nicht ausreichend evaluiert werden. Bei den Patientinnen (n = 4), bei denen die primären Endometrioseherde unter 2 cm groß waren, konnten nur bei einer Patientin ER/PR-positive Zellen und Endometrioseläsionen im LK gefunden werden. Bei den Patientinnen (n = 10), bei denen die primären Endometrioseherde größer als 2 cm waren, konnten bei 90 % ER- oder PR-positive Zellen und bei 4 Patientinnen vollständige Endometrioseläsionen in den LK gefunden werden (Tab. 3 Mechsner 2009/2. Publikation).

Wie bereits bei den SLK beschrieben, konnten bei den zufällig entnommenen LK ebenfalls die physiologisch vorkommenden vereinzelt CD-10- und Cytokeratin-positiven Zellen in der Medulla beobachtet werden.

4.3. Vergleich der Größe von Endometrioseläsionen in SLK und in zufällig entnommenen LK (3. Publikation)

Es wurden die Endometrioseläsionen von 14 Patientinnen miteinander verglichen. 6 Patientinnen stammten aus der SLK-Gruppe und 8 Patientinnen aus der Gruppe der zufällig entnommenen LK.

Es wurden bei 18 Patientinnen, bei denen ein oder mehrere SLK entnommen wurden, aus 30 Arealen 58 einzelne LK untersucht. Bei 6 von 18 Patientinnen (33,3 %) konnten in 7 SLK vollständige Endometrioseläsionen gefunden werden.

Bei den zufällig entnommenen LK wurden bei 8 von 23 Patientinnen (34,7 %) und in 9 von 105 LK (8,6 %) Endometrioseläsionen diagnostiziert. Für die Verteilung siehe Tab. 2, Spalte D–E; die inguinale LK wurden ausgeschlossen.

Es konnten insgesamt bei 14 Patientinnen Endometrioseläsionen nachgewiesen werden: bei 6 von 18 Patientinnen (33,3 %) aus der SLK-Gruppe und bei 8 von 23 Patientinnen aus der Gruppe der zufällig entnommenen LK (34,7 %). Die Endometrioseläsionen der SLK sind signifikant größer als die Endometrioseläsionen der zufällig entnommenen LK (Größe A: $p = 0,014$, Größe B: $p = 0,006$).

Für die Verteilung der Läsionen der einzelnen LK und SLK siehe Abb. 2 Weichbrodt 2010/ 3. Publikation.

Bei den Patientinnen der Kontrollgruppe, die nicht an Endometriose erkrankt waren, konnten in den LK weder freie ER/PR-positive Zellen noch Endometrioseläsionen nachgewiesen werden.

5. Diskussion

Die Endometriose ist eine östrogenabhängige Erkrankung, deren Pathomechanismus bisher ungeklärt ist. Obwohl die Endometriose zu den gutartigen Erkrankungen zählt, weist sie Wachstumseigenschaften auf, wie sie für maligne Erkrankungen typisch sind. So kann man Invasion und Destruktion von anderen Organen, Migration von Zellen und die lokale sowie die systemische lymphatische Ausbreitung beobachten. Obwohl Endometrioseläsionen in LK in Einzelfällen beobachtet und beschrieben wurden, waren diese Untersuchungen die ersten, die zum einen die lymphatische Verteilung der Endometriosezellen belegten und zum anderen das Vorkommen von nodalen Endometriosezellen sowohl in SLK als auch in regionalen LK systematisch an einer größeren Fallzahl darstellten. In einer prospektiven Studie wurden von 14 Patientinnen 18 SLK und in einer retrospektiven Studie von 24 Patientinnen 108 zufällig entnommene LK auf das Vorkommen von Endometrioseläsionen und freien ER/PR-positiven Zellen immunhistochemisch untersucht. Es konnten sowohl vollständige Endometrioseläsionen als auch positive ER- und PR-Zellen in den SLK und den zufällig entnommenen LK nachgewiesen werden. Der potenzielle Lymphknotenbefall bei Patientinnen mit Endometriose ist ein neuer Aspekt in der an sich komplexen Erkrankung. Zurzeit sind nur wenige Informationen über die biologische Bedeutung von Endometriose in Lymphknoten bekannt.

Die bisher veröffentlichten Daten (Abrao 2006, Noel 2007) bezogen sich ausschließlich auf regionale LK mit vollständigen Endometrioseläsionen, mit Epithelzellen und umgebendem zytogenem Stroma. Zusätzlich zu den bisher durchgeführten H&E-Färbungen wurden in der vorliegenden Arbeit zur Identifizierung der Endometriose immunhistochemische Färbungen mit Antikörpern gegen ER, PR, CD-10 und Cytokeratin durchgeführt. Dabei ließen sich neben den Endometrioseläsionen überraschenderweise auch freie ER- und PR-positive Zellen nachweisen. Diese fanden sich bei 83,3 % der Patientinnen, bei denen SLK entnommen wurden, und bei 70,8 % mit zufällig entnommenen LK. Vermutlich handelt es sich um freie Endometriosezellen. Diese freien Zellen sind zwar ER- und PR-positiv, aber CD-10- und Cytokeratin-negativ. CD-10 ist ein Stromazellmarker (Onda 2003) und Cytokeratin ein Epithelmarker, die bei den vollständigen Endometrioseläsionen nachgewiesen werden können. Eine mögliche Erklärung für das Vorkommen dieser freien ER/PR-positiven Zellen wäre, dass es sich bei diesen Zellen um Vorläuferzellen der Endometriose handelt, die sich erst später zu Stroma und Epithelzellen entwickeln und erst im Gewebeverband dann Cytokeratin- und CD-10-positiv werden. Es handelt sich also um einen Prozess wie die Metaplasie. Im Gegensatz zu malignen Erkrankungen zeigen nodale Endometrioseläsionen und freie positive ER/PR-Zellen aber keine nucleären Atypien und weder eine erhöhte Kern-Plasma-Relation noch Mitoserate.

Da diese Zellen ausschließlich in LK von Patientinnen mit Endometriose nachgewiesen wurden und die Zahl der Zellen mit der Größe des primären Endometrioseherdes korreliert, handelt es sich anscheinend um spezifische Endometriose-artige Zellen. Als weitere Möglichkeit wurde vermutet, dass es sich um Zellen des Immunsystems handeln könnte. In der aktuellen Literatur werden keine Zellen beschrieben, die diese Rezeptoren aufweisen. Eine zusätzliche Charakterisierung dieser Zellen wird in weiterer Zukunft notwendig sein.

Dass sich die freien ER- und PR-positiven Zellen vorwiegend erst am Randsinus der LK finden und sich dann in der Medulla ausbreiten, was den natürlichen Filterstationen des LK entspricht, ist als weiteres Zeichen zu werten, dass diese Zellen über lymphatische Abflusswege angeschwemmt werden.

Wie auch bei Abrao et al. konnte zusätzlich, sowohl in den zufällig entnommenen LK als auch in den SLK, ein Zusammenhang zwischen der Größe der tief infiltrierenden

Endometriose und dem Ausmaß der freien ER/PR-positiven Zellen und den primären Endometrioseherden beobachtet werden. Je größer der Endometrioseherd am Darm, desto größer die Wahrscheinlichkeit, dass sowohl der lokale LK als auch der SLK mit Endometriose befallen ist. Daher können in den SLK und den zufällig entnommenen LK freie ER- und PR-positive Zellen und/oder Endometrioseläsionen nachgewiesen werden, wenn die Darmendometriose eine Größe von mindestens 2 cm aufweist. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass die Endometrioseläsionen in den SLK im Durchmesser signifikant größer sind als in den regionalen LK. Dies deutet darauf hin, dass die SLK eher von Endometriose betroffen sind und die Läsionen mehr Zeit haben, sich auszubilden, und daher größer sind.

Das Immunsystem von Endometriosepatientinnen weist eine Reihe von Veränderungen auf, die wahrscheinlich eine wichtige Rolle bei der Chronifizierung der Erkrankung spielen. Zum einen findet sich eine signifikant verminderte Anzahl an natürlichen Killerzellen, wodurch die Endometriosezellen wahrscheinlich nur ungenügend eliminiert werden (Sikora 2011). Neben den zellulären immunologischen Veränderungen sind auch Zytokine, Wachstumsfaktoren und Hormone an der Ausbreitung der Endometriose beteiligt (Harada 2001, Koninckx 1998). Somit stellt die fehlende nodale Elimination der Endometriosezellen möglicherweise eine weitere Fehlregulation des Immunsystems dar, die zusätzlich für die Persistenz dieser Erkrankung verantwortlich sein könnte.

Diese Arbeit zeigt, dass Endometriosezellen in LK vorkommen. Die Ergebnisse können als Nachweis für eine mögliche lymphatische Ausbreitung der Endometriose gewertet werden. Bisher wurde der lymphatischen Ausbreitung keine relevante Bedeutung zugesprochen, da im Gegensatz zu malignen Erkrankungen keine LK-Rezidive beobachtet werden. Dennoch handelt es sich um einen systemischen Prozess. Die biologische Bedeutung ist derzeit noch unklar, und weiterführende Untersuchungen werden aufgrund der fehlenden Kenntnisse über die Pathophysiologie dieser Erkrankung erforderlich sein. Die Ergebnisse beschreiben einen potenziellen Benefit des SLK-Konzeptes, um Patientinnen mit tief infiltrierender Endometriose prospektiv zu evaluieren und das Risiko für ein Rezidiv abzuwägen. Trotz alledem ist es fraglich, ob Frauen, die an Endometriose erkrankt sind, routinemäßig einer Lymphnodektomie unterzogen werden sollten. Eine weitere Erkrankung, bei der nodale Absiedlungen

vorkommen, sind die ovariellen Borderline-Tumoren. Bei serösen Borderline-Tumoren wurde zwar in 20–30 % der Fälle eine LK-Beteiligung nachgewiesen, diese scheint jedoch keinen Einfluss auf die Prognose zu haben (Lesieur 2011). Aufgrund dessen wird inzwischen im Stadium I bei palpatorisch unauffälligem Befund auf eine Lymphnodektomie verzichtet (Camatte 2002). Beim derzeitigen Forschungsstand kann also keine Aussage darüber getroffen werden, ob Frauen, die an Endometriose erkrankt sind, wirklich von einer LK-Entfernung profitieren würden.

6. Literaturverzeichnis:

- Abrao MS, Podgaec S, Dias JA Jr, et al. Deeply infiltrating endometriosis affecting the rectum and lymph nodes. *Fertil Steril* 2006;86:543–7.
- Camatte S, Morice P, Atallah D, et al. Lymph Node Disorders and Prognostic Value of Nodal Involvement in Patients Treated for a Borderline Ovarian Tumor: An Analysis of a Series of 42 Lymphadenectomies. *J Am Coll Surg.* 2002 Sep; 195(3):332-8.
- Chan AC, Serrano-Olmo J, Erlandson RA, Rosai J. Cytokeratin-positive malignant tumors with reticulum cell morphology: a subtype of fibroblastic reticulum cell neoplasm? *Am J Surg Pathol* 2000;24:107-16.
- Cook JR, Craig FE, Swerdlow SH. Benign CD10-positive T cells in reactive lymphoid proliferations and B-cell lymphomas. *Mod Pathol* 2003;16:879-85.
- Di Silvestro P, Gold M, Gould N. Malignancies arising in Endometriosis. *Prim Care Update Ob/Gyns* 1999;6:122-4.
- Dubernard G, Piketty M, Rouzier R, Houry S, Bazot M, Darai E. Quality of life after laparoscopic colorectal resection for endometriosis. *Hum Reprod* 2006;2:1243–7.
- Ford J, English J, Miles WA, Giannopoulos T. Pain, quality of life and complications following the radical resection of rectovaginal endometriosis. *Br J Obstet Gynaecol* 2004;111:353–6.
- Fujishita A, Nakane PK, Koji T, et al. Expression of estrogen and progesterone receptors in endometrium and peritoneal endometriosis: an immunohistochemical and in situ hybridization study. *Fertil Steril* 1997;67:856–64.
- Garry R, Clayton R, Hawe J. The effect of endometriosis and its radical laparoscopic excision on quality of life indicators. *Br J Obstet Gynaecol* 2000;107:44–54.
- Giudice LC, Kao LC. Endometriosis. *Lancet* 2004;364:1789–99.
- Harada T, Jwabe T, Terakawa N. Role of cytokines in endometriosis. *Fertil Steril* 2001;76(1):1-10.
- Jacobson TZ, Duffy JM, Barlow D, et al. Laparoscopic surgery for pelvic pain associated with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009 Oct 7;(4):CD001300. Review.

- Köhler C, Klemm P, Schau A, et al. Introduction of transperitoneal lymphadenectomy in a gynecologic oncology center: analysis of 650 laparoscopic pelvic and/or paraaortic transperitoneal lymphadenectomies. *Gynecol Oncol* 2004;95:52-61.
- Koninckx PR, Kennedy SH, Barlow DH. Endometriotic disease: the role of peritoneal fluid. *Hum Reprod Update* 1998;4(5):741-51.
- Lesieur B, Kane A, Duvillard P, et al. Prognostic value of lymph node involvement in ovarian serous borderline tumors. *Am j Obstet Gynecol* 2011 Feb 22. [Epub ahead of print].
- Marnitz S, Köhler C, Bongardt S, Braig U, Hertel H, Schneider A; German Association of Gynecologic Oncologists (AGO). Topographic distribution of sentinel lymph nodes in patients with cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2006;103:35-44.
- Mechsner S, Weichbrodt M, Riedlinger WF, Kaufmann AM, Schneider A, Köhler C. Immunohistochemical evaluation of endometriotic lesions and disseminated endometriosis-like cells in incidental lymph nodes of patients with endometriosis. *Fertil Steril*. 2010 Jul;94(2):457-63. Epub 2009 May 6.
- Mechsner S, Weichbrodt M, Riedlinger WF, et al. Estrogen and progesterone receptor positive endometriotic lesions and disseminated cells in pelvic sentinel lymph nodes of patients with deep infiltrating rectovaginal endometriosis: a pilot study. *Hum Reprod* 2008;23:2202–9.
- Melin A, Sparén P, Persson I, et al. Endometriosis and the risk of cancer with special emphasis on ovarian cancer. *Hum Reprod*. 2006 May;21(5):1237-42. Epub 2006 Jan 23.
- Meyer R. Über den Stand der Frage der Adenomyositis und Adenome im allgemeinen und insbesondere über Adenomyosis seroepithelialis und Adenomyometritis sarcomatosa. *Zentralbl. Gynakol* 1919;36:754.
- Noel JC, Chapron C, Fayt I, Anaf V. Lymph node involvement and lymphovascular invasion in deep infiltrating rectosigmoid endometriosis. *Fertil Steril* 2008;89:1069–72.
- Onda T, Ban S, Shimizu M. CD10 is useful in demonstrating endometrial stroma at ectopic sites and in confirming a diagnosis of endometriosis. *J Clin Pathol* 2003;56:79.

- Revised American Society for Reproductive Medicine. Classification of endometriosis:1996. *Fertil Steril* 1997;67:817-21.
- Sampson J. Peritoneal endometriosis due to menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Am J Obstet Gynecol* 1927;14:422-69.
- Schneider A. The sentinel concept in patients with cervical cancer. *J Surg Onco* 2007;96:337-41.
- Sepulcri Rde P, Do Amaral VF. Depressive symptoms, anxiety, and quality of life in women with pelvic endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009;142:53–6.
- Sikora J, Mielczarek-Palacz A, Kondera-Anasz Z, et al. Role of natural killer cell activity in the pathogenesis of endometriosis. *Curr Med Chem* 2011;18(2):200-8.
- Tuttles F, Keckstein J, Ulrich U, et al. ENZIAN-Score, eine Klassifikation der tief infiltrierenden Endometriose. *Zentralbl Gynakol* 2005;127:275-282.
- Varol N, Maher P, Healey M, et al. Rectal surgery for endometriosis—should we be aggressive? *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 2003;10:182–9.
- Weichbrodt M, Gericke J, Riedlinger WF, et al. Ist die Sentinel-Lymphknotenmarkierung bei Patientinnen mit tiefinfiltrierender rektovaginalen Endometriose sinnvoll? *Geburtsh Frauenheilk* 2010;70:1-6.
- Van Gorp T, Amant F, Neven P, et al. Endometriosis and the development of malignant tumours of the pelvis. A review of literature. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004;18:349-71.
- Vignali M, Bianchi S, Candiani M, et al. Surgical treatment of deep endometriosis and risk of recurrence. *J Minim Invasive Gynecol* 2005;12:508-13.
- Zanetti-Dallenbach R, Bartley J, Muller C, et al. Combined vaginal-laparoscopic-abdominal approach for the surgical treatment of rectovaginal endometriosis with bowel resection: a comparison of this new technique with various established by laparoscopy and laparotomy. *Surg Endosc* 2008;22:995-1001.

7. Ausgewählte Publikationen und Anteilserklärung

Frau Miriam Weichbrodt hat ihre experimentelle kumulative Doktorarbeit mit dem Thema“ Untersuchungen zum Vorkommen von nodalen Endometrioseläsionen“ angefertigt. Grundlage für die kumulative Promotion sind folgende drei Publikationen:

Publikation 1

Mechsner S, Weichbrodt M, Riedlinger WFJ, Bartley J, Kaufmann AM

Schneider A, Köhler C. Estrogen and progesterone receptor positive endometriotic lesions and disseminated cells in pelvic sentinel lymph nodes of patients with deep infiltrating rectovaginal endometriosis: a pilot study. Hum Reprod 2008;23:2202–9.

(IF 3,8)

Frau Weichbrodt war für die Durchführung der praktischen Experimente und für den vorwiegenden Teil der Analysen der immunhistochemischen Färbungen verantwortlich. Die Analysen führte sie eigenständig durch. Zusätzlich war sie für die Probengewinnung zuständig. Beitrag: 30%

Publikation 2

Mechsner S, Weichbrodt M, Riedlinger WF, Kaufmann AM, Schneider A, Köhler C.

Immunohistochemical evaluation of endometriotic lesions and disseminated endometriosis-like cells in incidental lymph nodes of patients with endometriosis. Fertil Steril. 2010 Jul;94(2):457-63. Epub 2009 May 6. (IF 4,2)

Frau Weichbrodt führte die praktischen Experimente durch und war vorwiegenden für die Analysen der immunhistochemischen Färbungen verantwortlich. Beitrag: 40%

Publikation 3

Weichbrodt M, Gericke J, Riedlinger WF, Gericke C, Schneider A, Köhler C,

Mechsner S. Ist die Sentinel-Lymphknotenmarkierung bei Patientinnen mit tief infiltrierender rektovaginalen Endometriose sinnvoll? Geburtsh Frauenheilk 2010;70:1-6. (IF 0,33)

Frau Weichbrodt war für die Auswertung der immunhistochemischen Färbungen und die Erstellung der Ergebnisse verantwortlich. Ferner trug sie zur Manuskripterstellung bei. Beitrag: 50%

Miriam Weichbrodt

PD Dr. med. Sylvia Mechsner

8.1 Publikation 1

Mechsner S, Weichbrodt M, Riedlinger WFJ, Bartley J, Kaufmann AM

Schneider A und Köhler C. Estrogen and progesterone receptor positive endometriotic lesions and disseminated cells in pelvic sentinel lymph nodes of patients with deep infiltrating rectovaginal endometriosis: a pilot study. Hum Reprod 2008;23:2202–9.

8.2 Publikation 2

Mechsner S, Weichbrodt M, Riedlinger WF, Kaufmann AM, Schneider A, Köhler C. Immunohistochemical evaluation of endometriotic lesions and disseminated endometriosis-like cells in incidental lymph nodes of patients with endometriosis. *Fertil Steril*. 2010 Jul;94(2):457-63. Epub 2009 May 6.

8.3 Publikation 3

Weichbrodt M, Gericke J, Riedlinger WF, Gericke C, Schneider A, Köhler C, Mechsner S. Ist die Sentinel-Lymphknotenmarkierung bei Patientinnen mit tiefinfiltrierender rektovaginalen Endometriose sinnvoll? Geburtsh Frauenheilk 2010;70:1-6.

9. Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

10. Publikationsliste

Originalarbeiten

Weichbrodt M, Gericke J, Reidlinger WF, Gericke C, Schneider A, Köhler C und Mechsner S: Ist die Sentinel-Lymphknotenmarkierung bei Patientinnen mit rektovaginaler Endometriose sinnvoll? Geburtsh Frauenheilk 2010;70:1-6 (IF 0,33)

Mechsner S, **Weichbrodt M**, Riedlinger WF, Kaufmann AM, Schneider A, Köhler C. Immunohistochemical evaluation of endometriotic lesions and disseminated endometriosis-like cells in incidental lymph nodes of patients with endometriosis. Fertil Steril. 2010 Jul;94(2):457-63. Epub 2009 May 6. (IF 4,2)

Mechsner S, **Weichbrodt M**, Riedlinger W, Bartley J, Kaufmann AM, Schneider A und Köhler C: Estrogen and progesterone receptor positive endometriotic lesions and disseminated cells in pelvic sentinel lymph nodes of patients with rectovaginal deep infiltrating endometriosis: A Pilot Study. Hum Reprod 2008, 23(10):2202-2209. (IF 3,8)

Abstracts und Poster

2008

S. Mechsner, **M. Weichbrodt**, W. Riedlinger, J. Bartley, A. Schneider und C. Köhler: Sentinel lymph node detection in patients with deep infiltrating endometriosis: A pilot study. 10th world congress on endometriosis (2008); p25 (Abstract)

S. Mechsner, **M. Weichbrodt**, W. Riedlinger, J. Bartley, A. Schneider und C. Köhler: Endometriotic lesions and estrogen/progesterone receptor positive cells in sentinel lymph nodes of patients with deep infiltrating endometriosis. 24th annual meeting of ESHRE (2008); p166 (Abstract)

S. Mechsner, **M. Weichbrodt**, W. Riedlinger, J. Bartley, A. Schneider und C. Köhler.
Endometriose in pelvinen Sentinel-Lymphknoten von Patientinnen mit rektovaginaler
Endometriose – Pilotstudie
57. DGGG-Kongress, p17 (Abstract)

2009

Keichel S, Reichelt U, Barcena-de-Arellano M-L, **Weichbrodt M**, Schneider A, Köhler
C, Mechsner S: Immunhistochemische Untersuchung zur Lymphgefäßdichte in
rektovaginaler Endometriose. 8. Deutscher Endometriosekongress (2009) (Poster)

S. Mechsner, **M. Weichbrodt**, W. Riedlinger, J. Bartley, A. Schneider und C. Köhler:
Endometriose in pelvinen Sentinel-Lymphknoten von Patientinnen mit rektovaginaler
Endometriose
XXI. Akademische Tagung deutschsprechender Hochschullehrer in der Gynäkologie
und Geburtshilfe (2009), GebFra, p752 (Abstract)

Vorträge

2008

Sentinel lymph node detection in patients with deep infiltrating endometriosis: A pilot
study.

Mechsner S, **Weichbrodt M**, Riedlinger W, Bartley J, Schneider A und Köhler C
10th world congress on endometriosis, Melbourne 12.03.08

Endometriotic lesions and estrogen/progestogen receptor positive cells in sentinel
lymph nodes of patients with deep infiltrating endometriosis..

S. Mechsner, **M. Weichbrodt**, W. Riedlinger, J. Bartley, A. Schneider und C. Köhler
24th annual meeting of ESHRE, Barcelona, 08.07.08

Endometriose in pelvinen Sentinel-Lymphknoten von Patientinnen mit rektovaginaler
Endometriose – Pilotstudie

S. Mechsner, **M. Weichbrodt**, W. Riedlinger, J. Bartley, A. Schneider und C. Köhler
57. DGGG-Kongress, Hamburg, 17.09.08

2009

Endometriose in pelvinen Sentinel-Lymphknoten von Patientinnen mit rektovaginaler Endometriose

S. Mechsner, **M. Weichbrodt**, W. Riedlinger, J. Bartley, A. Schneider und C. Köhler
XXI. Akademische Tagung deutschsprachender Hochschullehrer in der Gynäkologie und Geburtshilfe, Innsbruck, 26.09.2009

11. Selbstständigkeitserklärung

„Ich, Miriam Weichbrodt, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Untersuchungen zum Vorkommen von nodalen Endometrioseläsionen“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Ort, Datum

Unterschrift

12. Danksagung

Mein Dank gilt meiner Betreuerin, Frau PD Dr. med. Sylvia Mechsner, für die Überlassung des Themas und ihre fachliche Betreuung bei der Erstellung der Publikationen und dieser Arbeit. Ihre konstruktive Kritik und ihre Bereitschaft, gemeinsam eine Lösung zu erarbeiten, haben diese Dissertationsarbeit erst möglich gemacht.

Zusätzlich möchte ich den Mitarbeitern des Endometrioselabors für die freundliche Unterstützung danken, im besonderen Andrea Kaiser für die Vermittlung der Technik zur Durchführung der immunhistochemischen Färbungen.

Ein großer Dank gilt Herrn Prof. Christhard Köhler für die Ermöglichung dieser Doktorarbeit und die sehr gute Kooperation.

Danken möchte ich auch Dr. Wolfgang Riedlinger aus dem Institut der Pathologie, Charité CBF, für die Hilfestellung bei der Auswertung des histologischen Materials und für die anregenden Gespräche bei Problemen.

Christine Gericke aus dem Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie, Charité CCM, danke ich für ihre Hilfestellung bei der statistischen Auswertung.

Mein allgemeiner Dank gilt Prof. Armin Schneider und den Mitarbeitern der Klinik für Gynäkologie, Charité CBF, für ihre hilfsbereite Unterstützung.

Meiner Familie danke ich für die liebevolle Unterstützung, die mir in der Zeit meiner Promotion und während meines Studiums zuteil wurde, und die mir stets Rückhalt gibt.