

Aus dem Charité Centrum 17 für Frauen-, Kinder- und Jugendmedizin mit  
Perinatalzentrum und Humangenetik  
Klinik für Geburtsmedizin  
Direktor Prof. Dr. med. Joachim W. Dudenhausen  
Klinik für Gynäkologie und gynäkologische Onkologie  
Direktor: Prof. Dr. med. Achim Schneider

## **Habilitationsschrift**

Endometriose das verkannte Frauenleiden  
Untersuchungen zum Verständnis der Pathogenese  
und der Schmerzentstehung

**zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach  
Frauenheilkunde und Geburtshilfe**

**vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät  
Charité-Universitätsmedizin Berlin**

**von**

**Dr. med. Sylvia Mechsner**  
**geboren am 04.05.1972 in Reinbek**

|               |  |
|---------------|--|
| Eingereicht:  | März 2010                                    |
| Dekanin:      | Frau Prof. Dr. med. Annette Grüters Kieslich |
| 1. Gutachter: | Herr Prof. Dr. med. Hans R. Tinneberg        |
| 2. Gutachter: | Herr Prof. Dr. med. Thomas Strowitzki        |

## Inhaltsverzeichnis

|   |            |
|---|------------|
| <b>1. Abkürzungen</b> .....   | <b>II</b>  |
| <b>2. Zusammenfassung</b> .....   | <b>III</b> |
| <b>3. Einleitung</b> .....  | <b>1</b>   |
| 3.1. Problematik und Zielsetzung .....  | 1          |
| 3.2. Definition und Einteilung der Endometriose.....  | 2          |
| 3.3. Historie.....  | 4          |
| 3.4. Pathogenese und Schmerzmechanismen .....   | 5          |
| 3.4.1. Pathogenese.....   | 5          |
| 3.4.2. Schmerzmechanismen .....   | 10         |
| 3.4.2.1. Pathomechanismus der zyklischen und azyklischen UBS.....                             | 12         |
| 3.4.2.2. Pathomechanismus der Dysmenorrhoe.....   | 13         |
| <b>4. Eigene Forschung</b> .....  | <b>14</b>  |
| 4.1. Pathogenesemechanismen der Endometriose.....   | 14         |
| 4.1.1. Lymphogene Verteilung von Endometriosezellen .....                                     | 14         |
| 4.1.2. Lymphgefäßdichte in Endometrioseläsionen .....   | 19         |
| 4.1.3. Nachweis der epidermal growth factor Rezeptorfamilie (EGFR1-4) in<br>Endometriose..... | 21         |
| 4.1.4. Muskelzellmetaplasie in primärer Nabelendometriose .....                               | 22         |
| 4.2. Schmerzmechanismen .....   | 25         |
| 4.2.1. Das Peritoneum als Ursache der Schmerzentstehung .....                                 | 25         |
| 4.2.1.1. Endometriose-assoziierte Nervenfasern in peritonealen EM-<br>Läsionen .....          | 25         |
| 4.2.1.2. Endometriose-assoziierte Muskelzellen in peritonealen EM-<br>Läsionen .....          | 27         |
| 4.3. Der Uterus als Schmerzursache.....   | 28         |
| 4.3.1. Hyper-und Dysperistaltik bei Adenomyosis uteri.....                                    | 28         |
| <b>5. Diskussion und Ausblick</b> .....   | <b>30</b>  |
| 5.1. Pathogenese.....   | 31         |
| 5.2. Schmerzmechanismen .....   | 32         |
| <b>6. Literaturverzeichnis</b> .....  | <b>36</b>  |

## 1. Abkürzungen

|        |  |
|--------|--|
| CD     | Cluster of differentiation                                     |
| CGRP   | Calcitonin gene related peptide                                |
| CK     | Zytokeratin  |
| COX-2  | Cyclooxygenase-2   |
| Cyr61  | cystein-rich, angiogenic inducer 61                            |
| DRG    | dorsal root ganglia  |
| EGFR   | Epithelial growth factor receptor                              |
| EM     | Endometriose   |
| ER     | Östrogenrezeptor   |
| Gap-43 | Growth associated protein 43                                   |
| GnRHa  | Gonadotropin Releasinghormon-Analoga                           |
| IL     | Interleukin  |
| LK     | Lymphknoten  |
| LV     | Lymphgefäße  |
| LVD    | Lymphgefäßdichte   |
| MCP-1  | monocyte chemoattractant protein 1                             |
| MRT    | Magnet Resonanz Tomographie                                    |
| NGF    | Nerve growth factor  |
| NPY    | Neuropeptid Y  |
| NSAID  | Nicht Steroidale Antiphlogistika                               |
| NT-3   | Neutrophin-3   |
| OT     | Oxytocin   |
| OTR    | Oxytocinrezeptor   |
| RANTES | regulated upon activation normal T-cell expressed and secreted |
| PG     | Prostaglandin  |
| PR     | Progesteronrezeptor  |
| SLK    | Sentinel-Lymphknoten   |
| STAR   | steroidogenic acute regulatory protein                         |
| TNF    | Tumor Nekrose Faktor   |
| TIAR   | tissue injury and repair                                       |
| UBS    | Unterbauchschmerzen  |
| VIP    | Vasointestinales Peptid  |
| VP     | Vasopressin  |
| VPR    | Vasopressin Rezeptor   |

## 2. Zusammenfassung

Die in dieser Arbeit vorgestellten Studien untersuchen Pathogenesemechanismen der Endometriose und mögliche Mechanismen der Schmerzentstehung durch Endometrioseläsionen. Diese Studien wurden auf die klinische Relevanz fokussiert, mit dem Ziel neue therapeutische Ansätze zu etablieren.

So konnten die lymphatischen Ausbreitungsmechanismen der Endometriose erstmals durch den Nachweis von Endometrioseläsionen in pelvinen Sentinel-Lymphknoten bei rektovaginalen Endometrioseläsionen belegt und hinsichtlich ihrer klinischen Bedeutung eruiert werden. Weiterhin wurde ein möglicher *survival pathway* über die Modulation der EGFR-Rezeptorfamilie in Korrelation zur Östrogenrezeptorexpression untersucht, der in der Senologie bereits gut bekannt ist. Auch seltene Formen der Endometriosemanifestation wurden charakterisiert. Bei einer primären Nabelendometriose konnten glatte Muskelzellen unterschiedlicher Differenzierungsgrade nachgewiesen werden, welche die Endometriose-assoziierte Muskelzellmetaplasie belegen. Weiterhin konnte belegt werden, dass sich Bauchdeckenendometrioseläsionen sowohl durch Verschleppungsmechanismen als auch primär durch metaplastische Vorgänge entwickeln können.

Eine Ursache der Schmerzentstehung sind peritoneale Endometrioseherde, wobei die Pathomechanismen im Einzelnen nicht geklärt sind. Der Nachweis von Nervenfasern, die in die peritonealen Endometrioseläsionen einsprossen und vermehrt bei Patientinnen mit starken UBS/Dysmenorrhoe auftreten, ist ein erstes Indiz, dass neben der inflammatorischen Schmerzkomponente auch neuropathische Schmerzen mit Ursache der Schmerzentstehung sind. Die signifikante Schmerzreduktion nach Entfernung der peritonealen Endometrioseläsionen, in denen vermehrt Nervenfasern nachweisbar waren, belegt diese Annahme. Weiterhin beleuchtet der Nachweis von Endometriose-assoziierten Muskelzellen in peritonealen Endometrioseläsionen mit der Expression von OTR, ER und PR erstmals die Möglichkeit der peritonealen kontraktialen Funktionseinheit, die für zyklische UBS mit verantwortlich sein könnte. Neu ist dabei auch die Erkenntnis, dass es sich bei diesen Muskelzellen um metaplastische, also neu entstandene, Muskelzellen handelt, die charakteristisch für Endometrioseläsion sind.

Der Nachweis des OTR wurde auch erstmals in Adenomyoseläsionen dargestellt, wobei morphologische Veränderungen in der Architektur des Myometriums mit einer Adenomyose-assoziierten Muskelzellhyperplasie beobachtet werden konnten. Interessant war dabei auch die Beobachtung, dass der Übergang der Basalis in das angrenzende Myometrium bei Patientinnen mit Adenomyose im Vergleich zu Patientinnen

ohne Adenomyose sehr unregelmäßig war, was die Theorie der basalen Ruptur infolge einer Hyperperistaltik unterstützt. Der OTR ist an der Koordination der uterinen Peristaltik involviert und stellt somit einen Ansatz in der spezifischen Therapie der Dysmenorrhoe durch einen entsprechenden Inhibitor dar.

Die vorgestellten Ergebnisse stellen weitere Bausteine der Pathogenese und der Schmerzentstehung der Endometriose dar und bieten vielfältige Ansatzpunkte für künftige Forschungsprojekte.

### **3. Einleitung**

#### **3.1. Problematik und Zielsetzung**

Endometriose ist eine Erkrankung von Frauen im reproduktionsfähigen Alter, die über ihre Leitsymptome Dysmenorrhoe, Dyspareunie, Dyschezie, Dysurie, zyklische und azyklische Unterbauchschmerzen (UBS), Blutungsstörungen und Fertilitätsbeeinträchtigung extreme menschliche, klinische und volkswirtschaftliche Relevanz hat [1,2].

Die Prävalenz der Endometriose wird mit 2-20% aller Frauen im o.g. Alter angegeben [3-5] und stellt somit eine der häufigsten benignen gynäkologischen Erkrankungen dar. Schätzungen ergeben, dass in Deutschland ca. 2 Mio. Frauen betroffen sind und bis zu 40.000 Neuerkrankungen pro Jahr diagnostiziert werden. Bei ca. 50% dieser Frauen besteht ein anhaltender Therapiebedarf [6]. Neben der starken körperlichen Einschränkung durch Schmerzen stellen die Rezidivraten von 50-80% auch nach operativer und endokriner Therapie ein großes Problem dar [7].

Äußerst problematisch ist, dass das Zeitintervall vom Auftreten der Symptome bis zur Diagnosestellung im Mittel 6-8 Jahre beträgt. Diese Problematik ist unter anderem durch die Unkenntnis über die Pathogenese der Endometriose und die Mechanismen der Schmerzentstehung, die dieser Erkrankung zugrunde liegen, bedingt. Die häufig „unauffälligen“ körperlichen Untersuchungsbefunde erschweren die Diagnose. Daher ist die ausführliche Anamnese oftmals ausschlaggebend, doch diese braucht viel Zeit. Um das gesamte Ausmaß der Beschwerden erfassen zu können, sind auch sensible Fragen über Beschwerden bei der Sexualität sowie grundsätzliche Fragen z.B. zur Familienplanung erforderlich. Dennoch ist das Krankheitsbild der Endometriose-assoziierten Symptome sehr gut beschrieben, so dass durch eine ausführliche Anamnese in den meisten Fällen eine frühzeitige Diagnosestellung bzw. Einleitung weiterführender Maßnahmen möglich wäre.

Da ein Großteil der betroffenen Patientinnen über Schmerzen klagt, die die Lebensqualität signifikant einschränken [8], sind insbesondere Kenntnisse in diesem Bereich von essentieller Bedeutung für die Diagnostik und die Therapie.

Weiterhin gibt es bisher keine kausalen Therapieansätze, was ebenfalls als eine Folge der mangelnden Kenntnisse hinsichtlich der Pathogenese und Schmerzentstehung zu verstehen ist und uns mit der Problematik der chronischen Erkrankung als auch mit einer hohen Rezidivrate konfrontiert. An dem bislang etablierten Behandlungskonzept

(operative Therapie, hormonelle Therapie und Analgesie) hat sich in den letzten Jahren keine wesentliche Veränderung durchgesetzt, obwohl die Behandlung in vielen Fällen unzureichend und unbefriedigend ist oder mit starken Nebenwirkungen einhergeht. Neue, innovative Ansätze fehlen.

In den in dieser Arbeit vorgestellten Studien werden zum einen Pathogenesemechanismen der Endometriose und mögliche Mechanismen der Schmerzentstehung durch Endometrioseläsionen untersucht. Mit dem Ziel, neue therapeutische Ansätze zu etablieren, wurde bei diesen Studien fokussiert auf die klinische Relevanz hingearbeitet.

### **3.2. Definition und Einteilung der Endometriose**

Bei der Endometriose handelt es sich um das Vorkommen von Endometrium-ähnlichen Geweben außerhalb des Cavum uteri. Die Endometriose kann nach ihrer Lokalisation in verschiedene Formen unterteilt werden:

Die Endometriosis genitalis externa umschreibt das Vorkommen von Endometrioseläsionen auf den peritonealen Hüllen (Peritoneum viscerale und parietale) des inneren weiblichen Genitales (Peritoneum des Uterus, der Tuben, der Ovarien, aber auch des Blasendaches, der Fossa ovarica, der Ligg. Sacrouterina, der Beckenwand) sowie das Vorkommen von Endometriosezysten in den Ovarien (Endometriome). Diese Form der Endometriose wird nach der American Society for Reproductive Medicine in vier Stadien (rASRM I-IV) eingeteilt [9], wobei sowohl das Ausmaß der eigentlichen Endometrioseläsionen als auch die Ausbildung von Adhäsionen mit berücksichtigt werden. Weiterhin kann die Endometriosis genitalis interna, das Vorkommen von Epithel und Stromazellen im Myometrium, auch Adenomyosis uteri genannt, sowie innerhalb der Tuben, differenziert werden. Auch die Endometriosis extragenitalis, das Vorkommen von Endometrioseläsionen unabhängig vom inneren weiblichen Genitale (in Blase, Darm, Zwerchfell, Bauchwand oder gar Lunge) kann abgegrenzt werden. Endometrioseläsionen wachsen oberflächlich und/oder tief infiltrierend mit Destruktion von angrenzenden Organen, wie z.B. Darm-, Blasen- und Ureterinfiltrationen. Die rektovaginale Endometriose stellt dabei eine Sonderform dar, sie ist typischerweise im Septum rektovaginale lokalisiert und die häufigste Form der tief infiltrierenden Endometriose. Für die rektovaginale Endometriose wurde die Einteilung nach der ENZIAN-Klassifikation erstellt [10]. Bei dieser Einteilung wird die Infiltration des endometrioiden Gewebes in angrenzende Organe/anatomische Strukturen wie beispielsweise die sakrouterinen Ligamente, die Vagina, Ureter oder

Darmwand mit berücksichtigt. Bei Destruktion der entsprechenden Organe kann es zu erheblichen Schmerzen mit funktionellen Störungen, im Falle der Darmwand bis hin zur Darmstenose kommen. Die verschiedenen Formen der Endometriose können isoliert oder in Kombination auftreten [11].

Das ektopes, ortsfremde Endometrium-ähnliche Gewebe verursacht eine lokale chronische Entzündungsreaktion, wodurch die Ausbildung von Adhäsionen begünstigt wird, die mit Fortschreiten der Erkrankung zu weiteren sekundären Veränderungen des inneren Genitale mit entsprechender Funktionseinschränkungen führen.

Aufgrund dieser Faktoren ist die Endometriose oftmals mit einem komplexen Beschwerdebild assoziiert. Zu den Leitsymptomen gehören Schmerzen, die unterschieden werden in Dysmenorrhoe, chronisch rezidivierende zyklisch und azyklische Unterbauchschmerzen, tiefe Dyspareunie und Dyschezie oder Dysurie. Die verschiedenen Schmerztypen können isoliert oder in Kombination auftreten. Das Ausmaß der Erkrankung korreliert dabei nicht mit dem Schweregrad der Symptome [12]. Ein weiteres schwerwiegendes Problem ist die Endometriose-assoziierte Infertilität von der bis zu 50% der an Endometriose erkrankten Frauen betroffen sind [13] (Tabelle 1).

**Tabelle 1: Leitsymptome der Endometriose**

| Schmerzen (meist zyklisch)  | Unerfüllter Kinderwunsch                                 |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dysmenorrhoe</li> <li>• Chronische Unterbauchschmerzen</li> <li>• Dyspareunie</li> <li>• Dyschezie</li> <li>• Dysurie</li> </ul> |  |
| Der Schmerz <u>korreliert nicht</u> mit dem rASRM Stadium   | Die Infertilität <u>korreliert</u> mit dem rASRM Stadium |

### 3.3. Historie

Obwohl die Endometriose bereits im späten 17. Jahrhundert beschrieben wurde, wird diese Erkrankung bis heute aufgrund des weitgehend fehlenden klinischen und wissenschaftlichen Interesses häufig als „forgotten disease“ bezeichnet [14].

Daniel Shroen (1690) beschrieb in seiner „Disputatio Inauguralis Medica de Ulceribus Uteri“ der Universität Jena Läsionen auf dem Peritoneum, dem Uterus, auf der Blase, dem Darm, den Uterusligamenten und der Zervix, die „bei geschlechtsreifen Frauenzimmern mit Kinderlosigkeit und Fehlgeburten“ auftraten. Im späten 18. Jahrhundert wurde bereits erkannt, dass lediglich Frauen von dieser Erkrankung betroffen waren und dass diese zyklische Beschwerden hatten (Ludgers, 1776; Stötzel 1797). Im späten 19. Jahrhundert folgten dann erste histologische Beschreibungen der Erkrankung von Carl v. Rokitansky (1860, Wien, Österreich), von Friedrich v. Recklinghausen & Wilhelm A. Freund (1896, Strassburg, Deutschland) und Thomas S. Cullen (1896, Baltimore, USA) [14].

Der Berliner Pathologe Robert Meyer postulierte 1924 erstmals die Metaplasie-Theorie zur Entstehung der Erkrankung und widmete der Erkrankung im Handbuch der Gynäkologie (1930) ein ganzes Kapitel mit ausführlichen morphologischen Beschreibungen und Differenzierung der unterschiedlichen Manifestationsformen [15]. Auch der Amerikaner J. A. Sampson erkannte 1921, dass „die Endometriose sowohl aus ökonomischer, klinischer, pathologischer und physiologischer Sicht“ von großer Bedeutung ist und postulierte als pathogenetische Ursache der Erkrankung die Theorie der retrograden Menstruation [16].

Die Therapie der Endometriose war zunächst die operative Entfernung solcher endometriotisch veränderten Organe (vorwiegend Ovarien und Uterus) mittels Bauchschnitt. Es wurde zwar 1961 von dem deutschen Gynäkologen K. Semm die Laparoskopie eingeführt, jedoch brauchte diese „Schlüsselloch-Methode“ noch viele Jahre, ehe sie als Standard-Eingriff im Rahmen von Endometriose-Operationen eingesetzt wurde. 1980 berichteten Semm und seine Mitarbeiter über die ersten laparoskopischen Ovarektomien. Die Entwicklung und Perfektionierung von Apparaten und Instrumenten parallel zur Schaffung neuer Operationstechniken trieben die Entwicklung der Pelviskopie an, so dass heute auch sehr ausgedehnte Endometriose-Manifestationen in spezialisierten Kliniken laparoskopisch durchgeführt werden können. Weiterhin führten Daten, die die Östrogenabhängigkeit der Erkrankung mit Nachweis der ER/PR Rezeptoren zeigten zu hormonellen Therapiekonzepten, die bis heute noch durchgeführt werden.

### **3.4. Pathogenese und Schmerzmechanismen**

Die Endometriose wird in ihrer Gesamtheit nicht verstanden. Insbesondere die Mechanismen der Pathogenese sowie die Schmerzentstehung sind in weiten Bereichen völlig ungeklärt. Dies hat zur Folge, dass derzeitige verfügbare Therapien lediglich symptomatische Ansatzpunkte aufweisen und oftmals ungenügend sind.

#### **3.4.1. Pathogenese**

Die Pathogenese der Endometriose ist bislang nicht geklärt. Die derzeitige vorherrschende Hypothese besteht in der Vorstellung, dass die Endometriose primär eine uterine Erkrankung ist, bei der es sekundär zur Absiedlung von ektopen Epithel- und Stromazellen kommt [17-20].

Dieses Konzept bezieht funktionelle Aspekte des Uterus mit ein. So können zwei funktionelle Schichten der Uteruswand unterschieden werden: Die Archimetra, die aus dem Endometrium (Stratum basale und functionale) und dem direkt angrenzenden Myometrium besteht sowie die Neometra. In der Archimetra, der phylogenetisch älteren Schicht laufen autonome Kontraktionsabläufe über den gesamten Zyklus ab, z.B. der gerichtete Spermientransport zur Zeit der Ovulation. Diese Kontraktionswellen sind für die Frau nicht spürbar, lassen sich aber in Ultraschalluntersuchungen sehr gut darstellen [21-23]. Die Neometra ist im Gegensatz zur Archimetra erst bei höher entwickelten Säugetieren nachweisbar. Sie ist für die Wehentätigkeit unter der Geburt verantwortlich. Bei Frauen mit Endometriose kann eine endometriale Überexpression der Aromatase mit einer lokalen Östrogenbiosynthese beobachtet werden [24]. Die lokal hohen Östrogenspiegel bedingen möglicherweise zunächst eine uterine Hyperperistaltik der Archimetra. Aufgrund der unphysiologisch starken Kontraktionen kommt es zur Mikrotraumatisierung der basalen Endometriumsschicht mit einem Herauslösen von Basalis-Fragmenten, die während der Menstruation, möglicherweise auch während der Ovulation (i.S. eines retrograden Flusses) oder aber per continuitatem durch Infiltration der Basalis in das Myometrium zu ektopen Absiedlungen führen [17-20]. Diesem Konzept liegt die Vorstellung zugrunde, dass eine für Endometriosepatientinnen typische uterine Hyperperistaltik zu Mikroläsionen in der Epithel-Mesenchym-Muskel-Übergangszone (Junctional Zone) führen kann, was eine Dislokation von Zellen der Zona basalis mit postuliertem Stammzell-Charakter ermöglicht [17-20]. Passend zu dieser Hypothese ist, dass die im Genital- und Extragenitalbereich entstehenden Endometrioseherde aus

Epithel, Stroma und glatten Muskelzellen bestehen [25,26] (Abb. 1) und auch ältere Untersuchungen bereits die Fähigkeit der Muskelzellmetaplasie im Bereich der Basalis belegen konnten [27].

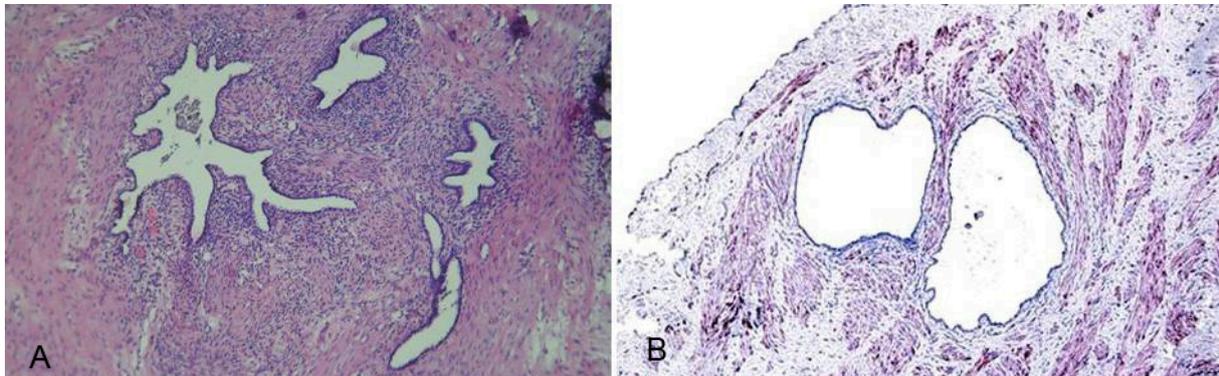


Abb 1: A: Darstellung einer peritonealen Endometrioselesion in der H&E-Färbung mit Epithel und Stromazellen. B: Immunhistochemische Darstellung der umliegenden Endometriose-assoziierten glatten Muskelzellen.

Interessant sind die Parallelen, die zwischen einer möglichen Endometriose/Adenomyoseentstehung und den Mechanismen des „tissue injury and repair program“ (TIAR) gezogen werden können, denn auch diese Mechanismen sind östrogenabhängig [20]. Bei einer Gewebeschädigung (=Mikrotraumatisierung) kommt es zur Synthese von  $IL-1\beta$ , welches die Hochregulation der COX-2 mit konsekutiver Prostaglandin (PG)  $E_2$ -Biosynthese bewirkt.  $PGE_2$  wiederum aktiviert das STAR (steroidogen acute regulatory protein) und die P450 Aromatase. STAR führt zur Freisetzung von Cholesterin, woraus Testosteron gebildet wird, die P450 Aromatase aromatisiert Testosteron zu Östrodial. Die lokale Östrogenbiosynthese ist essentiell für die Reparaturmechanismen, so dass diese Kaskade in allen Geweben aktiviert werden kann, auch in solchen, in denen die Aromatase physiologischerweise nicht exprimiert wird (Abb 2).

Mit neueren Erkenntnissen der Uterusfunktion, die belegen, dass auch der nicht-schwangere Uterus kontinuierlich aktiv ist und eine uterine Eigenperistaltik aufweist [28,29], erscheint eine Mikrotraumatisierung mit der Aktivierung der TIAR Mechanismen sehr nahe zu liegen. Es wird ein circulus vitiosus in Gang gesetzt, wodurch nach anfänglicher Hyperperistaltik zunehmend auch eine Dysperistaltik mit Ausbildung einer progredienten Dysmenorrhoe sowie Störungen im Bereich der reproduktiven Funktionsabläufe beobachtet werden können (Abb 3 und 4).

## Tissue Injury and Repair (TIAR)

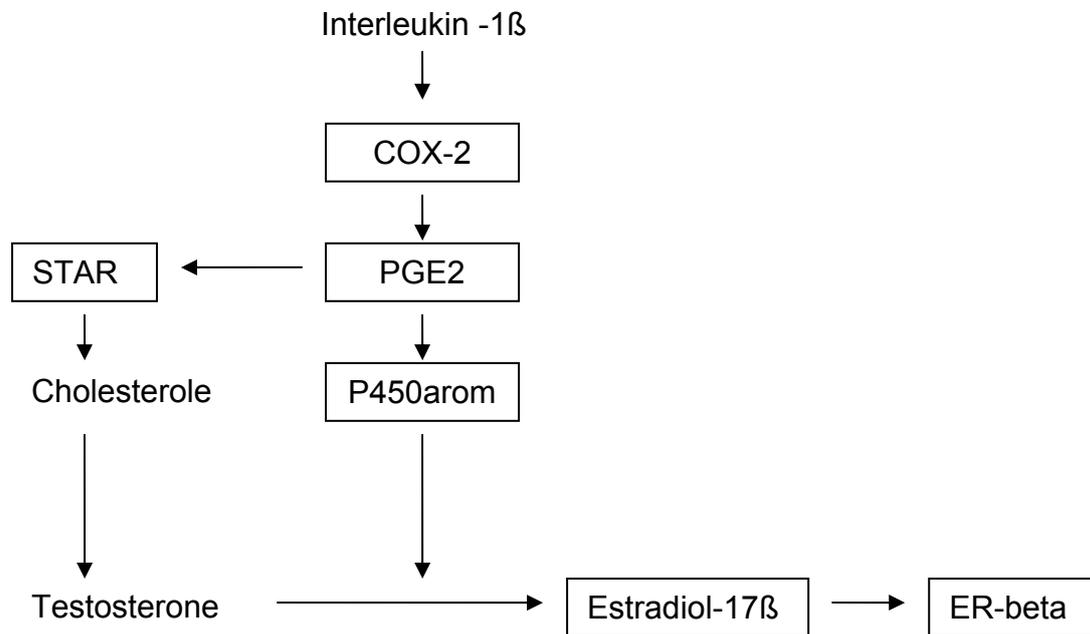


Abb 2: Stellt die Mechanismen der Gewebeschädigung und Reparaturmechanismen (TIAR) dar (aus Leyendecker et al, 2009, Arch Gynecol Obstet).

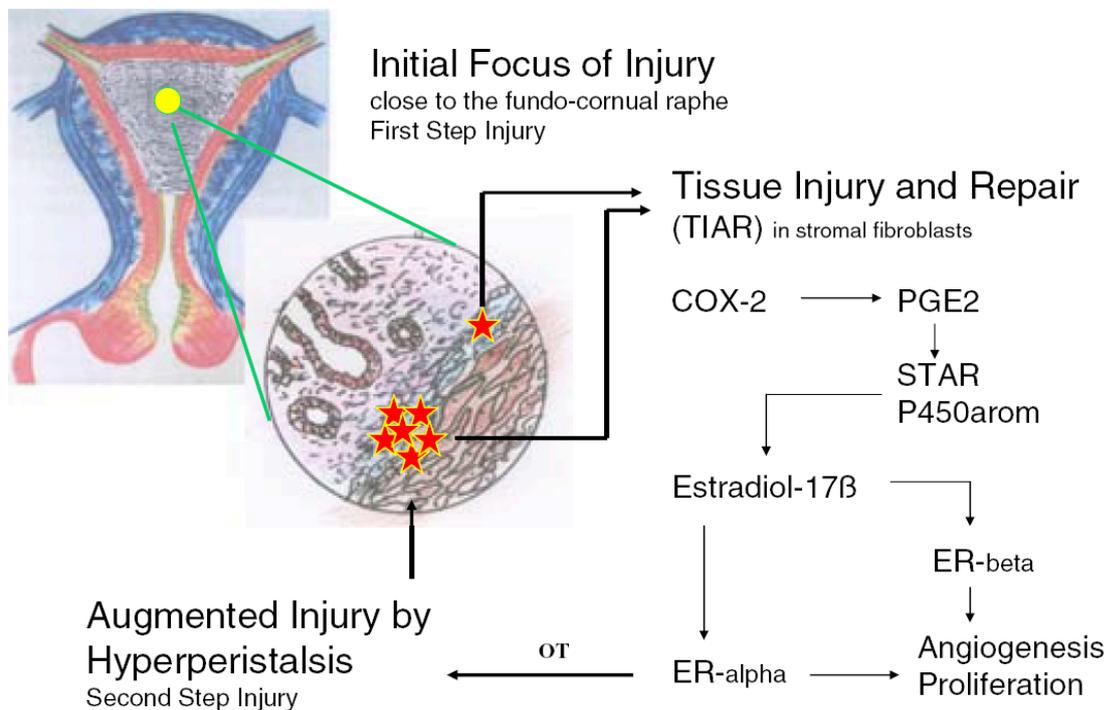


Abb. 3: Modell des "tissue injury and repair" (TIAR) auf die Endometriale-Myometrial Übergangszone bezogen. Der Mechanismus der primären Gewebeschädigung ist durch das einzelne Sternchen markiert. Die peristierende uterine Hyperperistaltik ist eine Folge der anhaltenden Gewebeschädigung mit permanent ansteigender Östrogenbildung und zunehmender Gewebeschädigung (aus Leyendecker et al., 2009, Arch Gynecol Obstet).

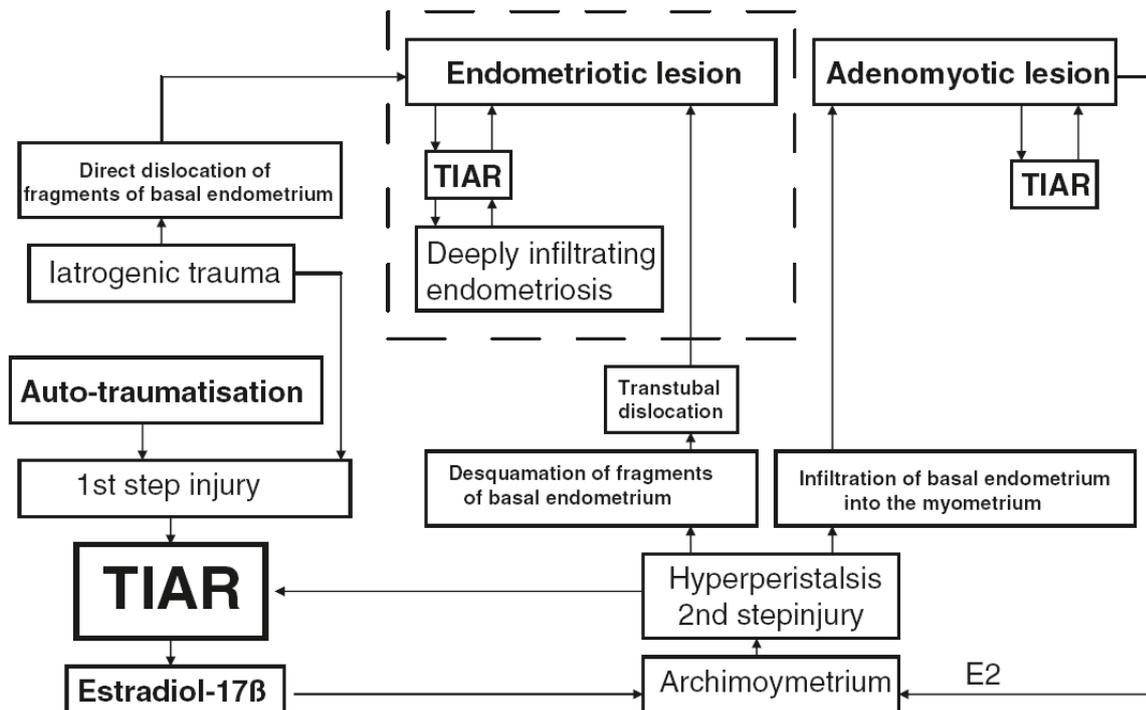


Abb 4: Pathophysiologisches Konzept der Endometriose und Adenomyoseentstehung. Die Gewebeschädigung in der Tiefe der Basalis und die Aktivierung des TIAR-Systems stellt den ersten Pathogeneseschritt mit Desquamation von basalen Fragmenten dar, die über die Tuben in den Bauchraum disloziert werden. Nach ektopter Ansiedlung und Ausbildung aller Endometriosekomponenten findet auch dort die Aktivierung der TIAR-Mechanismen statt. Durch die Ruptur der Basalis können Endometriumsfragmente auch in die Tiefe des Myometriums infiltrieren und zur Ausbildung einer Adenomyosis uteri führen. Die sekundären Folgen der Veränderungen in der Basalis führen zur zunehmenden Hyper- und Dysperistalsis.

Eine Vielzahl weiterer Studien lieferte weitere Hinweise, die gut zu diesem Konzept passen. So konnten im Menstrualblut von Frauen mit Endometriose vermehrt Fragmente des basalen Endometriums sowie höhere Östrogenspiegel im Vergleich zu nicht von Endometriose betroffenen Frauen beobachtet werden [17,30]. Der östrogenabhängige proangiogenetische Faktor Cyr61 ist sowohl im ektopten als auch eutopen Endometrium von Frauen mit Endometriose hochreguliert [31]. Im Tiermodell konnte eine endometriale Hochregulation des Gens nach Induktion einer peritonealen Endometriose nachgewiesen werden. Dies ist ein erster Hinweis, dass ein indizierter shift in der Expression von endometrialen Genen durch ektope Herde hervorgerufen werden kann und es zu Wechselwirkungen zwischen ektopten und eutopen Endometrium kommt, der möglicherweise auch durch erhöhte Östrogenspiegel bedingt ist [20,31]. Weiterhin kann bei Frauen mit bekannter Endometriose infolge der im Rahmen von reproduktiven Maßnahmen induzierten kontrollierten Überstimulation, abhängig von hohen peripheren

Östrogenspiegeln, eine ausgeprägte Hyperperistaltik im subendometrialen Myometrium beobachtet werden [19,23,31,32].

Eine ganze Reihe von weiteren molekularen Veränderungen können im Endometrium von Frauen mit Endometriose beobachtet werden, deren biologische Bedeutung noch lange nicht geklärt sind. So findet sich beispielsweise neben der beschriebenen Östrogenbiosynthese auch eine veränderte Zytokin- und Prostaglandinbiosynthese sowie eine gesteigerte Aktivität von Metalloproteinasen [3,33-35]. Kommt es zur Ansiedlung von ektopen Läsionen, so werden diese molekularen Mechanismen weiter moduliert, um die für das Überleben der ektopen Explantate erforderlichen Voraussetzungen zu schaffen [36]. Veränderungen bzw. Fehlfunktionen im Immunsystem scheinen weitere sekundäre Überlebensmechanismen der Explantate zu bewirken [3,37,38] So findet sich eine verminderte Anzahl an natürlichen Killerzellen (NK), die im Bauchraum für einen Abbau des endometrioiden Gewebes sorgen könnten. Das inflammatorische Milieu führt zu einer Überproduktion von Prostaglandinen, Interleukinen, Zyto- und Chemokinen sowie von Metalloproteinasen in der Peritonealflüssigkeit [3,33-35]. Der ansteigende Spiegel von akut inflammatorischen Zytokinen wie Interleukin 1 $\beta$ , Tumor Nekrose Faktor  $\alpha$  und Adhäsionsmolekülen fördert die Anheftung von cavitären endometrioiden Geweben an die peritoneale Oberfläche, die Expression von Metalloproteinasen fördert die Implantation dieser Fragmente. MCP-1, Interleukin-8 und RANTES führen zum Einwandern von Granulozyten und NK-Zellen sowie Makrophagen, die die chronische inflammatorische Reaktion widerspiegeln [3,33-35,39,40]. Bei Patientinnen mit Endometriose führen die veränderten inflammatorischen und immunologischen Antworten, Angiogenese- und Apoptosevorgänge zu einem Überleben der Explantate.

Neben der eutopen und ektopen Östrogenbiosynthese scheint aber auch das durch die Ovarien selbst synthetisierte Östrogen eine große Rolle zu spielen. Belegt wird dies durch Arbeiten, die das Auftreten der Endometriose in Korrelation zur Ovulations- und Menstruationsrate setzten [24] und die Erkenntnis, dass Gonadotropin Releasinghormone Analoga (GnRHa) [5] und Ovulationshemmer über eine periphere Downregulation der Eierstocksfunktion die Schmerzen reduzieren und die Rezidivrate senken können [41].

Die einzelnen bisher beschriebenen Theorien zur Pathogenese der Endometriose konnten jedoch keine eindeutigen Beweise für das Auftreten der Erkrankung liefern. So muss davon ausgegangen werden, dass das Geschehen multifaktoriell ist und die verschiedenen Theorien ineinandergreifend sind.

Immer wieder wird auch die Möglichkeit der Verteilung von Endometriosezellen über die Lymphabflusswege erwähnt [15,42]. Lediglich Fallberichte beschrieben diese Beobachtung, wissenschaftliche Daten hingegen, die dies belegen könnten, lagen lange Zeit nicht vor.

Die Sonderform der tief infiltrierenden Endometriose zeigt einige Eigenschaften, die sonst nur bei malignem Wachstum zu finden sind wie Infiltration und Destruktion von angrenzenden Organen sowie eine ausgeprägte Angiogenese. Kürzlich veröffentlichte Daten [43,44] konnten zeigen, dass in Lymphknoten (LK), die im Rahmen von Operationen solcher tief infiltrierenden Endometriosen zufällig mit entfernt wurden, Endometrioseläsionen in Abhängigkeit zur Größe der primären Läsionen zu finden waren. Dies ist ein völlig neues Kriterium im komplexen Geschehen dieser Erkrankung und wirft viele Fragen auf.

Dieser Pathomechanismus und seine Bedeutung werden in der vorliegenden Arbeit beleuchtet.

#### **3.4.2. Schmerzmechanismen**

Nach wie vor ist auch die Schmerzentstehung bei Endometriose ein in weiten Bereichen unverstandenes Gebiet. Interessant ist die Tatsache, dass keine klinische Korrelation zwischen dem Ausmaß der Erkrankung und der Intensität der Schmerzen besteht [12]. Es können zwar Rückschlüsse hinsichtlich der Art der Schmerzen auf die Endometriose-Manifestationsform gezogen werden, doch überlappen sich die Symptome der einzelnen Formen auch. So haben z.B. Patientinnen mit einer Adenomyosis uteri meist eine Dysmenorrhoe, aber auch zyklische Unterbauchschmerzen (UBS). Diese Beschwerden können aber auch bei alleiniger Endometriosis genitalis externa vorliegen. Eine Dyspareunie kann bei Adenomyosis uteri, Endometriosis genitalis externa und vor allem bei einer rektovaginalen Endometriose vorliegen. Schmerzen beim Stuhlgang oder beim Wasserlassen hingegen deuten auf eine Beteiligung von Blase oder Darm hin. (Tabelle 2).

Tabelle 2

| Symptome                                     | Lokalisation der EM   |
|--|---|
| Dysmenorrhoe                                 | Adenomyose<br>Peritoneale Läsionen  |
| Unterbauchschmerzen                          | Peritoneale Läsionen<br>Adhäsionen<br>Adenomyose                              |
| Dyspareunie                                  | Rektovaginale Endometriose Douglas<br>Sacrouterin Ligamente                   |
| Dyschezie/Dysurie<br>Hämatochezie/Hämatourie | Organbefall von Darm u/o Blase  |
| Sterilität                                   | Adenomyose/Endometriose<br>Endometriome<br>Adhäsionen<br>Verschluss der Tuben |

Je nach Endometriosemanifestation können also sowohl somatische als auch viszerale Schmerzen vorliegen. Durch anamnestische Angaben kann differenziert werden. Somatische Schmerzen, die eher von Beckenwand, Muskeln und Gelenken ausgehen, können meist gut lokalisiert werden und werden eher als scharf/spitz bezeichnet, während viscerale Schmerzen von intraperitonealen Organen stammen, die über das sympathische Nervensystem versorgt werden. Diese Schmerzen sind oftmals schlecht lokalisierbar, werden als dumpf und krampfartig beschrieben und können über mehrere Dermatome ausstrahlen. Häufig sind sie auch mit Übelkeit und Erbrechen assoziiert. Es bestehen jedoch komplexe Interaktionen zwischen den reproduktiven Organen, dem Urogenitaltrakt und dem Darm, so dass eine Differenzierung oft sehr schwer ist, vor allem, wenn der Schmerz chronifiziert ist [45]. Weiterhin erschwerend können im Verlauf der Erkrankung adhäsionsbedingte Schmerzen hinzukommen, die oftmals durch einen Übergang der zunächst zyklischen in azyklische UBS charakterisiert sind. Aufgrund der chronischen Schmerzen entwickeln die Patientinnen nicht selten eine reaktive Depression sowie Psychosomatisierungserscheinungen, die das Krankheitsbild noch komplexer machen. Die wichtigsten Differentialdiagnosen der chronischen UBS sind neben der Endometriose postoperative Adhäsionen (nicht-Endometriose-bedingt), pelvine Varikosis, interstitielle Cystitis und unspezifische Darmfunktionsstörungen, das Colon irritabile.

Im Weiteren soll schwerpunktmäßig auf die Pathogenese der Endometriose-assoziierten

chronisch rezidivierenden zyklischen und/oder azyklischen UBS sowie der Dysmenorrhoe eingegangen werden. Dies sind wichtige Symptome, die einer adäquaten Behandlung bedürfen.

#### **3.4.2.1. Pathomechanismus der zyklischen und azyklischen UBS**

Die Pathogenese der Endometriose-assoziierten chronischen UBS ist ungeklärt. Die Synthese von Schmerzmediatoren durch die Endometrioseläsion selber und deren Aktivität scheinen einen nachgewiesenen Einfluss auf die Schmerzgenese zu haben. Schmerzmediatoren wie Prostaglandine, Histamine, Kinine und Interleukine werden von Endometrioseläsionen sezerniert und aktivieren peritoneale Nozizeptoren [46-48]. In tief infiltrierenden rektovaginalen Endometrioseläsionen konnten erstmals Nervenfasern in großer Menge nachgewiesen werden, die z.T. von Stromazellen infiltriert zu sein schienen [49]. Mit zunehmender Nervenfaserdichte nahm die Hyperalgesie, die durch Druck auf die Läsion auslösbar war, zu [49]. Verschiedene Arbeitsgruppen hatten sich daher bemüht, die topographische Beziehung von Nervenfasern in peritonealen Endometrioseläsionen zu belegen, jedoch zunächst ohne Erfolg [50-52]. 2004 konnten Berkley und Kollegen erstmals in einem Tiermodell das Einsprossen von Nervenfasern in ektopes Uterustransplantate mit Ausbildung einer autonomen und sensorischen Innervation nachweisen [53]. Dies war ein erster Hinweis für die Innervation der Endometriose. Neben einer australischen Arbeitsgruppe gelang uns dann der Nachweis von Nervenfasern in enger topographischer Beziehung zu peritonealen Endometrioseläsionen [54,55]. Sie konnten als sensorische myelinisierte A $\delta$  und unmyelinisierte C-Fasern charakterisiert werden und waren oftmals von lymphozytären Infiltraten begleitet. Es könnte also neben der allgemein angenommenen inflammatorischen, nociceptiven Schmerzkomponente auch ein neuropathischer Schmerzcharakter vorliegen [45], insbesondere dann, wenn die zunächst zyklischen UBS in azyklische und/oder chronische Schmerzen übergehen, die oftmals als brennend und spitz beschrieben werden und gegenüber hormoneller Therapien und nicht-steroidale Antiphlogistika resistent sind.

Daher stellte sich die Frage, ob die in peritonealen Endometrioseläsionen vorkommenden Nervenfasern einen Einfluss auf die Schmerzpathogenese haben. Dazu war es erforderlich, solche Endometriose-assoziierten Nervenfasern systematisch zu charakterisieren.

### 3.4.2.2. Pathomechanismus der Dysmenorrhoe

Ein weiteres schwerwiegendes Symptom der Endometriose und Adenomyosis uteri ist die Dysmenorrhoe. Sie kann enorme Ausmaße annehmen und bis zur Arbeitsunfähigkeit und Bettlägerigkeit für die Zeit der Menstruation führen. Erste Untersuchungen zur Pathophysiologie stammen aus den 80er Jahren. Akerlund und Kollegen haben sich eingehend mit den Ursachen der primären Dysmenorrhoe (Dysmenorrhoe, die mit der ersten Regel auftritt und ohne erkennbare organische Erkrankung einhergeht) beschäftigt und konnten zeigen, dass diese durch ein Ungleichgewicht der uterotonen Substanzen Oxytocin (OT), Vasopressin (VP) und der Prostaglandine (PG)  $E_2/F_{2\alpha}$ , zu Ungunsten des vasodilatativen Prostacyclins begründet ist [56-61]. Durch die Muskelkontraktion ohne ausreichende Vasodilatation scheint es zu ischämisch bedingten Schmerzen zu kommen [62]. Interessanterweise sind auch die peripheren VP- und OT-Spiegel bei Frauen mit Dysmenorrhoe erhöht [61,63-65]. Beide Rezeptoren konnten im Myometrium auch in nicht-graviden Uteri nachgewiesen werden [66,67], so dass die Vermutung nahe liegt, dass die Rezeptorsysteme bei der Koordination der uterinen Kontraktionsabläufe involviert sind. Dies scheint auch durch die Wirksamkeit von oralen Kontrazeptiva, die u.a. durch eine Downregulation der peripheren OT und VP-Spiegel zur Reduktion der Kontraktionen führen und damit auch die Dysmenorrhoe oftmals vermindern, belegt werden [56,63,64]. Ein wirksamer Effekt konnte auch unter der Therapie mit dem OT-Rezeptor (R)-Inhibitor Atosiban® beobachtet werden [56,60,68-70].

Untersuchungen, die speziell die Pathophysiologie der sekundären Dysmenorrhoe (Dysmenorrhoe, die in späteren Jahren auftritt und eher mit organischen Ursachen assoziiert ist) bei Endometriose/Adenomyose beleuchten, insbesondere auch die OTR/VPR-Expression, gibt es bisher keine.

## **4. Eigene Forschung**

Im folgenden Abschnitt werden meine publizierten oder im Druck befindlichen Arbeiten thematisch geordnet dargestellt. Der Inhalt eines jeden Manuskriptes wird auf Deutsch zusammengefasst und im Gesamtzusammenhang dargestellt. Die Publikationen sind vollständig im Abschnitt „Die Originalarbeiten“ zu finden.

### **4.1. Pathogenesemechanismen der Endometriose**

#### **4.1.1. Lymphogene Verteilung von Endometriosezellen**

Ausgangspunkt unserer Untersuchungen war die Fragestellung, ob die lymphogene Verteilung von Endometriosezellen einen eigenständigen Pathomechanismus darstellen könnte.

Dazu bot sich zunächst Untersuchungen bei Patientinnen mit rektovaginaler Endometriose an, da diese Endometrioseform gut über das hintere Scheidengewölbe zugänglich ist und so eine Markierung der Lymphabflussbahn mit dem Ziel der systematischen Sentinel-Lymphknotenmarkierung (SLK-Markierung) möglich war. Das SLK-Konzept ist gut etabliert, um die Lymphabflussbahnen eines Primärtumors darzustellen. Dieses Prinzip wird insbesondere beim operativen Staging von Tumorerkrankungen eingesetzt und ist im Bereich des Mamma- und auch Zervix-Karzinoms gut untersucht [71]. Aufgrund dieser Erfahrungen und der anatomisch vergleichbaren Lokalisation schlussfolgerten wir, dass die rektovaginale Endometriose ähnlich wie das Zervix-Karzinom drainiert wird.

Daher wurde im Rahmen einer Pilot-Studie zunächst bei 14 Patientinnen eine Markierung der Lymphabflusswege durchgeführt. Dazu wurde Patentblau peritumoral in den hinteren Scheidenfornix injiziert. Anschließend wurden, im Rahmen der standardisierten operativen Sanierung, die blau markierten LK laparoskopisch entnommen. Zur Identifizierung von Endometriosezellen wurden diese Sentinel-Lymphknoten (SLK) sowohl mit Haematoxylin-Eosin (H&E) gefärbt als auch immunhistochemisch auf das Vorkommen von spezifischen, in der Endometriose häufig exprimierten Markermolekülen, hin untersucht. Es wurden Färbungen gegen den Östrogenrezeptor (ER) und Progesteronrezeptor (PR) durchgeführt, ferner Färbungen gegen CD10, einen endometrioiden Stromazellmarker, und Zytokeratin (CK), einen Epithelzellmarker. Die Ergebnisse waren überraschend: Bei 12 von 14 Patientinnen konnten blau-markierte LK entnommen werden, die sich im kleinen Becken (Interiliakal-Gefäß-Region) ca. 10-15 cm von der primären Läsion entfernt, angefärbt

hatten. Bei größeren Primärläsionen (>2cm) stellten sich auch bilateral LK dar. Nun konnten zum einen bei 3 der 12 Patientinnen (25%) in den SLK Endometrioseläsionen mit Epithel- und Stromazellen dargestellt werden. Die Epithelzellen waren positiv für CK, die Stromazellen positiv für CD10 und beide exprimierten ER und PR. Des Weiteren zeigten sich jedoch bei 10 von 12 Patientinnen (83.3%) disseminierte PR/ER positive Zellen, die vorwiegend im subkapsulären Sinus, im superfiziellen Cortex und im Mark des SLK verteilt vorlagen. Diese Zellen zeigten häufiger PR-Expression als ER-Expression und waren negativ für CD10 und CK. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass es sich hierbei um undifferenzierte Zellen handelt, die sich erst im Gewebeverband (bei vollständiger Ausbildung einer Endometrioseläsion) endgültig zu Epithel- und Stromazellen differenzieren. In Kontroll-LK von Patientinnen ohne Endometriose (Patientinnen mit Zervix-Karzinom oder Divertikulitis, n=9) konnten weder ER/PR noch CD 10 oder CK positive Zellen nachgewiesen werden. Je größer die Primärläsion war, desto häufiger zeigten sich positive PR/ER Zellen, aber auch die Anzahl der nachweisbaren Zellen nahm mit zunehmender Größe der Primärläsion zu. Diese Arbeit stellt einen ersten Beweis der lymphatischen Absiedlung von Endometriosezellen über die Lymphgefäße dar.

### **Publikation 1**

Mechsner, S., Weichbrodt, M., Riedlinger, W.F., Bartley, J., Kaufmann, A.M., Schneider, A. und Köhler, C.

Estrogen and progestogen receptor positive endometriotic lesions and disseminated cells in pelvic sentinel lymph nodes of patients with rektovaginal deep infiltrating endometriosis: A Pilot Study. Human Reproduction, 2008, 23(10):2202-2209.

Um einschätzen zu können, wie häufig und ausgedehnt eine nodale Endometriosemanifestation generell bei Patientinnen mit Endometriose vorkommt, wurde im weiteren Verlauf der Untersuchungen ein Datensuchlauf im Pathologischen Archiv durchgeführt. Dadurch konnten retrospektiv über den Zeitraum 2002-2008 bei 23 wegen Endometriose operierten Patientinnen 105 zufällig entnommene LK in den Präparaten identifiziert werden. Dabei handelte es sich um regionale LK, die zufällig im Resektionsgewebe lokalisiert waren. Die LK wurden ebenfalls sowohl mittels HE-Färbung als auch immunhistochemisch auf das Vorkommen von Endometrioseläsionen und disseminierten Endometriose-artigen Zellen hin untersucht. Retrospektiv zeigte sich, dass 21 dieser Patientinnen aufgrund des Verdachtes einer rektovaginalen Endometriose und zwei Patienten bei Verdacht auf stenosierende Darmtumore operiert wurden. Bei allen Patientinnen wurde die rektovaginale Endometriose und bei fünf zusätzlich eine Darmendometriose im Coecalpolbereich histologisch bestätigt. Auch in diesen regionalen LK konnten in 33,3% der Fälle Endometrioseläsionen sowie in 70,8% disseminierte ER/PR positive Endometriose-artige Zellen nachgewiesen werden.

Diese Ergebnisse spiegeln wider, dass lediglich im Rahmen einer sanierenden operativen Entfernung der tief infiltrierenden Endometriose Darmteilresektionen mit Excision von angrenzenden mesorektalen Gewebe durchgeführt und in diesem Gewebe befindliche LK zum Teil zwangsläufig mit entfernt werden. Da bei anderen Endometrioseformen der Organerhalt und die Rekonstruktion des inneren Genitales im Vordergrund stehen, werden ausgedehnte Excisionen vermieden. So erklärt sich, dass lediglich bei Patientinnen mit tief infiltrierender Endometriose zufällig entnommene LK in den Präparaten nachweisbar waren. Derzeit kann daher keine Aussage zur Prävalenz von Endometriose in LK bei anderen Endometriosemanifestationen wie der peritonealen und/oder ovariellen Endometriose gemacht werden.

## **Publikation 2**

Mechsner, S., Weichbrodt, M., Riedlinger, W.F., Kaufmann, A.M., Schneider, A. und Köhler, C.

Immunohistochemical evaluation of endometriotic lesions and disseminated endometriosis-like cells in lymph nodes of patients with endometriosis. *Fertility and Sterility*, 2009, Epub.

In den vorgestellten Arbeiten zeigte sich ein vergleichbares Vorkommen von Endometriose sowohl in SLK als auch in zufällig während der sanierenden radikalen Excision der tief infiltrierenden Endometriose entnommenen LK.

Die chirurgische Excision ist die effektivste Therapie der tief infiltrierenden rektovaginalen Endometriose [72,73]. Die notwendige Radikalität solcher Operationen bedingt allerdings ein erhöhtes Risiko für intra- und postoperative Komplikationen, wie z.B. rektovaginale Fisteln oder funktionelle Blasen- und Darmentleerungsstörungen [74-80]. Um die Risiken zu minimieren, wurden nerven- und gewebeschonende Verfahren etabliert [75]. Ein besonders schonendes Verfahren ist die Segmentresektion unter Erhalt des Mesocolons mit Resektion nur des betroffenen Darmschlauches [81,82]. So zeigt sich, dass in der Gruppe der Patientinnen mit SLK-Markierung, die nach diesem Verfahren operiert wurden, nur zwei zufällig entnommene Lymphknoten im histologischen Präparat zu finden waren, da mesenteriale LK technisch nicht miterfasst wurden. In herkömmlichen Operationsverfahren wird der Darmschlauch mitsamt Mesocolon entfernt, so dass sich zwangsläufig auch reichlich regionale Lymphknoten in solchen Resektaten finden. Die postoperative Komplikationsrate nach Erhalt des Mesocolons ist im Vergleich zu radikaleren Verfahren signifikant reduziert [81,82].

Das SLK-Konzept erlaubt bei Patientinnen mit rektovaginaler Endometriose eine gezielte Entnahme der relevanten LK. Aufgrund der intraoperativen Visualisierung des SLK kann gewebeschonend, ohne Erhöhung der Morbidität, operiert werden [71,83-86]. Um zu evaluieren, ob das SLK-Konzept für weiterführende Studien zur klinischen Bedeutung der nodalen Endometrioseläsionen Anwendung finden kann, wurde in der vorliegenden Studie das Vorkommen und die Morphologie von Endometriose (EM)-Läsionen in pelvinen SLK mit solchen in zufällig entnommenen regionalen LK bei Patientinnen mit rektovaginaler Endometriose verglichen.

Dazu wurden bei 18 Patientinnen 58 pelvine SLK und bei 23 Patientinnen 105 zufällige sich im Resektionsgewebe befindliche LK auf das Vorkommen von EM-Läsionen hin untersucht. Zur Identifikation von EM-Läsionen wurde immunhistochemisch die Expression von ER- und PR sowie CD10 und CK untersucht. Anschließend wurde die Größe der EM-Läsionen zweidimensional ermittelt. Es bestätigte sich die vergleichbare Prävalenz von EM-Läsionen in beiden Gruppen. Interessant war aber, dass die EM-Läsionen der SLK signifikant größer waren als die Läsionen in den zufällig entnommenen regionalen LK. Dies weist darauf hin, dass die Absiedlung frühzeitig erfolgt und die Läsionen länger Zeit haben, sich zu entwickeln.

Das Vorkommen von EM-Läsionen in SLK sowie in regionalen LK demonstriert eine lymphogene Ausbreitung der Endometriose. Das Sentinel-Konzept ist im Vergleich zu zufällig resezierten LK bei Patientinnen mit rektovaginaler Endometriose besser geeignet, die relevanten LK zu identifizieren. Damit sollte bei zukünftigen Studien zur Evaluierung der klinischen Bedeutung der lymphogenen Endometrioseausbreitung das SLK-Konzept Anwendung finden.

### **Publikation 3**

Riedlinger, W.F.J., Weichbrodt, M., Gericke, J., Gericke, C., Schneider, A., Köhler, C., Mechsner S:

Sentinel Lymph Node Labelling Of Patients With Deep Infiltrating Rektovaginal Endometriosis – Does This Make Sense? Journal of Endometriosis, 2009, in press

#### **4.1.2. Lymphgefäßdichte in Endometrioseläsionen**

Um die Pathogenese des Vorkommens von nodalen Endometrioseläsionen weiter zu evaluieren, wurden Analysen hinsichtlich des Vorkommens und der Anzahl von Lymphgefäßen (LV) in den primären rektovaginalen Endometrioseherden durchgeführt. Mittels D2-40, einem Antikörper gegen Lymphendothelzellen, erfolgte die immunhistochemische Identifikation von Lymphgefäßen in den EM-Herden und die Ermittlung der Lymphgefäßdichte (LVD). Die Bestimmung der LVD erfolgte differenziert für EM-Herde in der Vagina, dem perirektalem Fettbindegewebe, der Muscularis propria und der Submucosa des Darmes. Die LVD in den EM-Herden wurde mit der LVD in nicht von EM betroffenem Gewebe (Darm/ Vagina) verglichen.

Im Vergleich zu den Kontrollen zeigte sich in rvEM-Läsionen eine insgesamt signifikant erhöhte LVD. Die rvEM-Herde mit Infiltration der Vagina zeigten eine um den Faktor 5,3 ( $p < 0,0001$ ), im perirektalen Fettbindegewebe eine um den Faktor 3,8 ( $p < 0,0001$ ), in der Muscularis propria mit eine um den Faktor 4,6 ( $p < 0,0001$ ) und in der Submucosa eine um den Faktor 2,1 ( $p < 0,05$ ) erhöhte LVD.

Dieses Ergebnis lässt sich gut mit dem Vorkommen von EM-Läsionen und Endometrioseartigen Zellen in mesorektalen und pelvinen LK vereinbaren und unterstützt die Vermutung der lymphogenen Verteilung von Endometriosezellen.

#### **Disputation**

Susanne Keichel, Medizinische Fakultät der Charité „Untersuchungen zur Lymphangiogenese in Endometriose“

#### **Poster**

Keichel S, Reichelt U, Barcena-de-Arrellano M-L, Weichbrodt M, Schneider A, Köhler C, Mechsner S:

Immunhistochemische Untersuchung zur Lymphgefäßdichte in rektovaginaler Endometriose. 8. Deutscher Endometriosekongress (2009)

## Immunhistochemische Untersuchungen zur Lymphgefäßdichte in rektovaginaler Endometriose (rvEM)

S. Keichel<sup>1</sup>, U. Reichelt<sup>2</sup>, M.-L. Barcena-de-Arellano<sup>1</sup>, M. Weichbrodt<sup>1</sup>, A. Schneider<sup>1</sup>, C. Köhler<sup>1</sup> und S. Mechsner<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Endometriosezentrum Charité, Klinik für Gynäkologie mit Hochschulambulanz, Charité-Universitätsmedizin Berlin, <sup>2</sup>Institut für Pathologie, Charité-Universitätsmedizin, Campus Benjamin Franklin

**Fragestellung:** Die tief infiltrierende rvEM ist eine chronische Erkrankung mit hoher Rezidivneigung, die zudem Eigenschaften von malignen Tumoren wie infiltratives und destruierendes Wachstum aufweist. Kürzlich konnten nodale EM-Läsionen und Östrogen/Progesteron-Rezeptor positive Endometriose-artige Zellen in mesorektalen Lymphknoten und in pelvinen Sentinel-Lymphknoten bei Patientinnen mit rvEM nachgewiesen werden. Es ist unklar, ob diese Beobachtung ein lokales Phänomen oder ein systemischer Prozess ist. Um die Pathogenese dieser Beobachtung zu untersuchen, wurden Analysen hinsichtlich des Vorkommens und der Anzahl von Lymphgefäßen (LV) in den primären rvEM-Herden durchgeführt.

**Material und Methoden:** Bei 40 Patientinnen mit symptomatischer rvEM wurde eine vaginal-kombinierte, laparoskopisch-assistierte Resektion des rektovaginalen Septums mit oder ohne Darmteilresektion durchgeführt. Mit Hilfe von D2-40, einem Antikörper gegen Lymphendothelzellen, erfolgte die immunhistochemische Identifikation von Lymphgefäßen in den EM-Herden. Die EM-Herde wurden unter dem Mikroskop vermessen und die im EM-Stroma vorkommenden Lymphgefäße ausgezählt. Anschließend wurde die Lymphgefäßdichte (LVD) ermittelt. Die Bestimmung der LVD wurde einzeln für EM-Herde in der Vagina, dem perirektalem Fettbindegewebe, der Muscularis propria und der Submucosa des Darmes vorgenommen. Die LVD in den EM-Herden wurde mit der LVD in nicht von EM betroffenem Gewebe (Darm/Vagina) verglichen. In diesen Kontrollen erfolgte die Bestimmung der LVD nach der Hot-Spot-Methode, durch die Ermittlung der LVD am Ort mit der höchsten Lymphgefäßanzahl.

**Ergebnisse:** Im Vergleich zu den Kontrollen zeigte sich in rvEM-Läsionen eine insgesamt signifikant erhöhte LVD. Die rvEM-Herde mit Infiltration der Vagina zeigten eine um den Faktor 5,3 ( $p < 0,0001$ ), im perirektalen Fettbindegewebe eine um den Faktor 3,8 ( $p < 0,0001$ ), in der Muscularis propria mit eine um den Faktor 4,6 ( $p < 0,0001$ ) und in der Submucosa mit einer um den Faktor 2,1 ( $p < 0,05$ ) erhöhte LVD.

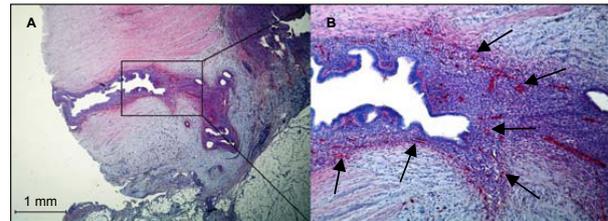


Abb. 1: Immunhistochemische Darstellung von Lymphgefäßen (LV) in einem rvEM-Herd mittels D2-40, einem Antikörper gegen Lymphendothelzellen. A: Ausschnittsvergrößerung eines rektalen EM-Herdes im Übergang zwischen Muscularis propria und perirektalem Fettbindegewebe. (Vergrößerung x25). B: Ausschnittsvergrößerung des EM-Herdes mit zahlreichen D2-40 positiven LV (Pfeile) im EM-Stroma. (Vergrößerung x100)

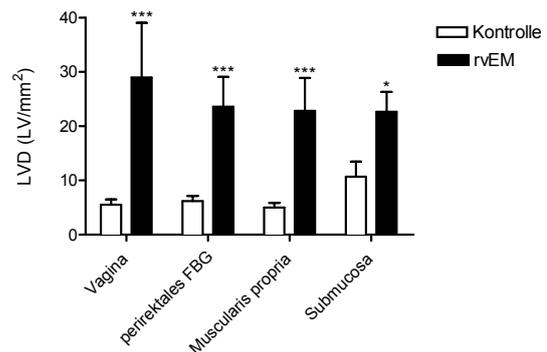


Abb. 2: Vergleich der Lymphgefäßdichte (LVD) in von rvEM infiltrierten angrenzenden Organen sowie von EM-freiem Kontrollgewebe. Dargestellt sind die Mittelwerte der LVD mit Standardabweichungen. (n=40) RvEM-Herde mit Infiltration der Vagina zeigten eine mittleren LVD von 29 LV/mm<sup>2</sup>, im perirektalen Fettgewebe eine mittleren LVD von 24 LV/mm<sup>2</sup>, in der Muscularis propria eine mittleren LVD von 23 LV/mm<sup>2</sup> und in der Submucosa eine mittleren LVD von 21 LV/mm<sup>2</sup>. Die Statistische Analyse erfolgte mittels Two-Way-ANOVA-Test. (---  $p < 0,0001$ ; -  $p < 0,05$ )

**Schlussfolgerung:** RvEM-Herde zeigen eine im Vergleich zum umliegenden Endometriose-freien Gewebe und zu Kontrollgeweben signifikant erhöhte LVD auf. Dieses Ergebnis lässt sich gut mit dem Vorkommen von EM-Läsionen und Endometriose-artigen Zellen in mesorektalen und pelvinen LK vereinbaren und unterstützt die Vermutung der lymphogenen Verteilung von Endometriosezellen.

### **4.1.3. Nachweis der epidermal growth factor Rezeptorfamilie (EGFR1-4) in Endometriose**

Obwohl die Endometriose als eine benigne, östrogenabhängige Erkrankung definiert ist, zeichnet sie sich durch ein oftmals infiltratives Wachstum aus, wie es auch bei Malignomen beobachtet werden kann. Eine weitere Besonderheit ist die, auch nach ausgedehnter operativer Entfernung, hohe Rezidivrate. Aufgrund der Östrogenabhängigkeit stellt daher die Hormontherapie mit dem Ziel der peripheren Östrogen-Downregulation neben den operativen Maßnahmen eine weitere Säule der Behandlung dar, insbesondere mit dem Ziel der Rezidivprophylaxe [87]. Interessanterweise können jedoch gelegentlich auch unter einer Hormontherapie mit GnRH-Analoga außerordentlich aggressiv auftretende Rezidive beobachtet werden, die gegenüber weiteren Hormontherapien resistent und entsprechend schwer behandelbar sind. Daher liegt die Vermutung nahe, dass eine Subpopulation von Endometriosezellen unter Hormonentzug in der Lage ist, einen weiteren östrogenunabhängigen survival pathway zu aktivieren.

Die EGFR-Familie spielt über verschiedene Mechanismen eine wesentliche Rolle in der Entwicklung, Progression und Prognose verschiedener östrogenabhängiger Malignome [88-91]. Insbesondere konnte eine inverse Korrelation der EGFR-1 und 2 zur ER $\alpha$ -Expression in Mamma-Karzinomen nachgewiesen werden [92-94]. Aufgrund der Parallele zu östrogenabhängigen Tumorerkrankungen wurde daher sowohl die Expression der EGFR-Familie als auch deren Beziehung zur ER-System in Endometriose untersucht. In peritonealen und ovariellen EM-Läsionen konnten alle vier Mitglieder der EGFR-Familie in unterschiedlicher Expressionsstärke nachgewiesen werden. Lediglich in ovariellen EM-Läsionen zeigte sich auch die vermutete inverse Korrelation zwischen der EGFR- und der ER $\alpha$ -Expression. Diese Ergebnisse lassen zusammenfassend einen Einfluss der EGFR-Familie auf das Wachstum und die Progression bei Endometriose vermuten. Weiterführende Untersuchungen sind erforderlich die genauen Mechanismen zu entschlüsseln.

#### **Publikation 4**

Herbel, J.\*, Mechsner, S.\*, Gericke, C., Bartley, J., Loddenkemper, C., Salomon, D.A. and Ebert, A.D.

Expression and of the epidermal growth factor receptor family in correlation to the estrogen receptor  $\alpha$  expression in peritoneal and ovarian endometriosis. \*equally contributing authors. Journal of Endometriosis, 2009, in press

#### **4.1.4. Muskelzellmetaplasie in primärer Nabelendometriose**

Gemäß der Hypothese der Endometrioseentstehung durch metaplastische Vorgänge differenzieren sich EM-Läsionen aus persistierenden coelomhaltigen Epithelzellen (siehe Metaplasie-Theorie, Meyer, 1930). Passend zu dieser Annahme konnten in einer primären Nabelendometriose mittels immunhistochemischer Charakterisierung neben den Epithel- und Stromazellen auch glatte Muskelzellen nachgewiesen werden. Die glatten Muskelzellen zeigten unterschiedliche Differenzierungsgrade. Läsionsnah fanden sich überwiegend unreife Muskelzellen, während die ausdifferenzierten weiter peripher lokalisiert lagen. Die Epithel- und Stromazellen exprimierten ER und PR sowie CD10 und sind neben den Muskelzellen eindeutig ortsfremd im Nabel. Erklärbar ist dieses Phänomen durch embryonale Entwicklungsvorgänge, während derer es zu einem physiologischen Nabelbruch kommt, der sich in der weiteren Embryogenese wieder rückbildet. Möglicherweise können sich Coelomepithelzellen bei Persistenz des physiologischen Nabelbruchs den Apoptosemechanismen entziehen, sich in der reproduktiven Phase reaktivieren und konsekutiv zur Ausbildung von Endometrioseläsionen aus diesen reaktivierten pluripotenten Zellen führen.

Dies ist ein erster Beweis für die bislang ungeklärte Ätiologie der Nabelendometriose durch metaplastische Vorgänge.

#### **Publikation 5**

Mechsner, S., Bartley, J., Infanger, M., Loddenkemper, C., Herbel, J. and Ebert, A.D.

Clinical management and immunohistochemical analysis of umbilical endometriosis. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 2009, Aug;280(2):235-42. Epub 2008 Dec 31.

Neben der metaplastischen Entstehung der Nabelendometriose ist auch eine Verschleppung von Endometriosezellen aus dem Bauchraum denkbar. In einer retrospektiv durchgeführten Analyse aller im Endometriosezentrum der Charité behandelten Patientinnen mit Bauchdeckenendometriose konnte evaluiert werden, dass Bauchdeckenendometriosen in primäre und sekundäre Formen eingeteilt werden können. So kann sich im Narbengewebe nach Operationen sowohl in Throkareinstichstellen als auch in Sectio-Narben eine sekundäre (infolge des operativen Eingriffs) Bauchdeckenendometriose manifestieren, indem endometrioide Zellen nach Endometrioseoperationen oder auch nach Cavumeröffnung bei Kaiserschnitten aus eutopen Endometrium verschleppt werden und sich dort ansiedeln. Primäre (ohne vorherige abdominal-chirurgischer Eingriffe) Bauchdeckenendometriosen fanden sich lediglich im Nabel und entstehen vermutlich wie oben beschrieben am ehesten durch lokale metaplastische Vorgänge. Die klinischen Symptome sowie das therapeutische Vorgehen sind bei beiden Formen abhängig vom Ausmaß der Beschwerden und der Läsion und bestehen primär in der operativen Entfernung bzw. in einer hormonellen Therapie.

#### **Publikation 6**

Mechsner, S., Infanger, M., Ebert, A.D., Schneider, A. und Bartley, B.

Bauchdeckenendometriose – diagnostisches und therapeutisches Management.

Geburtshilfe und Frauenheilkunde, 2009, im Druck

Zusammenfassend ergänzen die erarbeiteten Daten die bisherige Hypothese der multifaktoriellen Genese zur Entstehung der Endometriose. Es konnte ein erster Beweis für eine lymphatische Verteilung von Endometriosezellen dargestellt werden, wobei die biologische Bedeutung dieser nodalen EM-Läsionen derzeit noch unklar bleibt. Endometriosezellen scheinen selektiv neben der östrogenabhängigen Wachstumsform auch weitere survival pathways entwickeln zu können, möglicherweise ist dabei die EGFR-Familie beteiligt.

Der Nachweis von glatten Muskelzellen unterschiedlicher Differenzierungsstadien ist ein Beweis für das metaplastische Potential von Endometriosezellen, wobei der Ursprung dieser Zellen im Nabel sehr wahrscheinlich aus reaktivierten Coelomepithelzellen hervorgeht.

## **4.2. Schmerzmechanismen**

Wir haben hinsichtlich der komplexen Symptomatik von Patientinnen mit Endometriose in Zusammenarbeit mit der Schmerzambulanz der Charité (Dr. Kopf) einen umfassenden Schmerzfragebogen entwickelt, der an jede Patientin, die im Endometriosezentrum der Charité behandelt wird, alle 3 Monate wiederholt vergeben wird. Die Daten des Schmerzfragebogens werden in einer Datenbank erfasst.

### **4.2.1. Das Peritoneum als Ursache der Schmerzentstehung**

#### **4.2.1.1. Endometriose-assoziierte Nervenfasern in peritonealen EM-Läsionen**

Der Nachweis von Endometriose-assoziierten Nervenfasern steht in den letzten Jahren stark im Fokus der Forschung. In eigenen Untersuchungen konnten sensible Nervenfasern erstmals in engem Kontakt zu peritonealen EM-Läsionen nachgewiesen werden. Dabei handelt es sich sowohl um myelinisierte A $\delta$ - als auch um kleine unmyelinisierte C-Nervenfasern. Diese Endometriose-assoziierten Nervenfasern sind von unreifen Gefäßen begleitet, was die Vermutung auf eine analoge Nerveneinsprossung in die EM-Läsion hinein nahe legt. Der Nachweis von Gap-43, einem Markermolekül für sich regenerierende bzw. wachsende Nervenfasern in den endometriosenahen Nervenfasern bestärkt diese Vermutung. Ferner unterstützt der Nachweis von Nervenwachstumsfaktoren wie NGF und NT-3, die von EM-Läsionen exprimiert werden, diese Hypothese.

#### **Publikation 7**

Mechsner, S., Schwarz, J., Thode, J., Loddenkemper, C., Salomon, D., Ebert, A.D.

Gap-43 positive sensory nerve fibers accompanied by immature vessels are located in or near peritoneal endometriotic lesions, *Fertility and Sterility* 2007; 88(3): 581-587.

Um zu prüfen, ob solche Endometriose-assoziierten Nervenfasern einen klinischen Einfluss auf das Schmerzgeschehen haben, wurde eine prospektive Analyse hinsichtlich des Vorkommens solcher Endometriose-assoziierten Nervenfasern in Abhängigkeit der Schmerzintensität durchgeführt. In dieser Analyse konnte nachgewiesen werden, dass Patientinnen mit starken zyklischen/azyklischen Unterbauchschmerzen sowie starker Dysmenorrhoe signifikant häufiger Nervenfasern in unmittelbarer Umgebung der EM-Läsionen aufweisen als Patientinnen mit wenig oder keinen Schmerzen (85% vs 33%).

### **Publikation 8**

Mechsner, S., Kaiser, A., Kopf, A., Gericke, C., Ebert, A.D. and Bartley, J.

A pilot study to evaluate the clinical relevance of endometriosis-associated nerve fibres in peritoneal endometriotic lesions. *Fertility and Sterility*, 2009, 92(6):1856-1861. Epub 2008 Nov

Die Entfernung solcher peritonealen EM-Läsionen führt zu einer signifikanten postoperativen Schmerzreduktion.

### **Publikation 9**

Kaiser, A., Kopf, A., Gericke, C., Bartley, J. and Mechsner, S.

The influence of peritoneal endometriotic lesions on the generation of endometriosis related pain and pain reduction after surgical excision. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 2009, Sep, 280 (3):369-73. Epub 2009 Jan 16

Diese Arbeiten liefern einen ersten Beweis dafür, dass peritoneale Endometriose-assoziierte Nervenfasern Einfluss auf die Schmerzpathogenese nehmen und die Endometriose neurotrophe Eigenschaften besitzt, die zu einem Einsprossen von neuen Nerven in das Gewebe führt.

#### **4.2.1.2. Endometriose-assoziierte Muskelzellen in peritonealen EM-Läsionen**

Neben Epithel- und Stromazellen finden sich auch glatte Muskelzellen in peritonealen Endometrioseläsionen. Diese Endometriose-assoziierten Muskelzellen exprimieren ER- und PR sowie OTR und zeigen somit Charakteristika der Uterusmuskulatur. Ob diese glatten Muskelzellen funktionell aktiv sind und damit durch Irritation von peritonealen Nocizeptoren an der Pathogenese der Endometriose-assoziierten Schmerzen beteiligt sind, ist bislang ungeklärt, scheint aber eine plausible Erklärung für zyklische Menstruations-assoziierte Unterbauchschmerzen zu sein.

##### **Publikation 10**

Mechsner, S., Bartley, J., Loddenkemper, C., Salomon, D.S., Starzinski-Powitz, A., Ebert, A. D.

Oxytocin receptor expression in smooth muscle cells of peritoneal endometriotic lesions and ovarian endometriotic cysts. *Fertility and Sterility*, 2005, 83(1): 1220-1231.

Zu den Mechanismen der peritonealen Schmerzentstehung bei Endometriose zählen multiple Faktoren wie Aktivität und Lokalisation der Herde, Synthese von Schmerz- und Entzündungsmediatoren, aber auch Nerveneinsprossung und möglicherweise Kontraktionen von im Peritoneum lokalisierten myometrialen Muskelfasern.

### **4.3. Der Uterus als Schmerzursache**

#### **4.3.1. Hyper-und Dysperistaltik bei Adenomyosis uteri**

Neben peritoneal bedingten Schmerzen stellt die Dysmenorrhoe eins der häufigsten Endometriose-assoziierten Symptome dar. Ursächlich dafür wird ein Prostaglandin/ Prostacyclin Ungleichgewicht angenommen [56-61]. Dabei überwiegt die myometriale Kontraktion gegenüber der Gefäßdilataion und führt so zu ischämischen Schmerzen. Neuere MRT-gestützte Untersuchungen belegen aber, dass bei Frauen mit Endometriosis genitalis externa in bis zu 90% der Fälle auch eine Adenomyosis uteri vorliegt [95]. Inwieweit das pathophysiologische Konzept der Dysmenorrhoe auch für die Adenomyosis uteri gilt, ist unklar. Sehr wahrscheinlich ist, dass die beobachteten Hyper- und Dysperistaltik des Myometriums die Dysmenorrhoe mit verursachen. Das OTR- und das VPR-System sind potente Uterotonika und an der Koordination von uterinen Kontraktionsabläufen involviert, es liegen aber keine Daten hinsichtlich veränderter Expressionsmuster der Rezeptorsysteme bei Adenomyosis uteri vor. Daher wurden diese in der vorliegenden Arbeit erstmals in Adenomyosis uteri untersucht.

Es zeigte sich eine milde zyklusunabhängige Expression des OTR im epithelialen Endometriumszellen von adenomyotischen und nicht-adenomyotischen Uteri sowie eine der endometrialen Basalis entsprechende Expression des OTR in Epithelien der Adenomyoseläsionen. Weiterhin war der OTR stark im Myometrium exprimiert, wobei sich eine verstärkte Expression um die Adenomyoseläsionen herum präsentierte. Morphologisch scheint perinodulär eine Muskelzellhyperplasie vorzuliegen, wodurch das Myometrium sehr kompakt erscheint. Das OTR-System kann sowohl über eine epitheliale PG-Synthese, aber auch über eine direkte myometriale uterotone Wirkung an der Ausbildung einer Hyper-und Dysperistaltik bei Adenomyosis uteri beteiligt sein.

Der VPR ließ sich hingegen lediglich im myometrialen Zellen und der Gefäßmuskularis darstellen, das Endometrium und die Adenomyoseläsionen selber zeigten keine VPR-Expression. Der VPR kann ebenfalls an der Ausbildung einer Dys- und Hyperperistaltik beteiligt sein.

Sehr interessant stellte sich der endo-/myometriale Übergang in Uteri mit Adenomyosis uteri im Vergleich zu nicht von Adenomyose betroffenen Uteri dar. Die Übergangzone war bei Adenomyosis uteri stark zerklüftet, was ein Hinweis auf die vermutete Mikrotraumatisierung der Basalis mit Ruptur und konsekutiver Ausbildung einer

Adenomyosis uteri darstellt.

**Publikation 11**

Mechsner, S., Grum, B., Gericke, C., Loddenkemper, C., Dudenhausen, J.W. and Ebert, A.D.

Possible roles of the Oxytocin Receptor (OTR) and the Vasopressin 1 $\alpha$  Receptor (VP1 $\alpha$ R) in the pathomechanism of dysperistalsis and dysmenorrhea in patients with adenomyosis uteri. *Fertility and Sterility*, in press

## 5. Diskussion und Ausblick

Frauen, die von Endometriose betroffen sind, haben häufig einen langen Leidensweg und eine signifikante Einschränkung ihrer Lebensqualität zu erdulden. Zum einen sind sie von starken, regelmäßig auftretenden Schmerzen geplagt, die bis hin zur Bettlägerigkeit und Arbeitsunfähigkeit, sogar zum Arbeitsplatzverlust oder zur Aufgabe von Lebenszielen führen, zum anderen sind sie aber auch durch starke Schmerzen und die Dyspareunie in ihrer Partnerschaft eingeschränkt, was nicht selten zu großen Belastungen innerhalb der Beziehung bis hin zur Trennung führt. Nicht zu vergessen ist die große persönliche Not, die durch eine jahrelange ungewollte Kinderlosigkeit entsteht.

Obwohl die einzelnen Formen der Endometriose und die Beschwerden gut beschrieben wurden, ist die Endometriose in ihrer Gesamtheit noch lange nicht verstanden. Das derzeitige Therapiekonzept besteht aus drei Säulen: 1. operative Entfernung aller sichtbaren Läsionen, 2. hormonelle Therapien, 3. symptomatische Therapie mit Analgetika. Das grundlegende Problem an der Erkrankung - und das spiegelt sich in der Behandlung wieder - ist jedoch, dass nach wie vor die Ursache der Endometriose unklar ist. Trotz intensiver Therapien sind Betroffene wie Kliniker mit der hohen Rezidivrate von bis zu 75% konfrontiert, in der sich das eigentliche Dilemma widerspiegelt. Das Wiederauftreten von Beschwerden führt oftmals zu multiplen operativen Eingriffen, die nicht immer den gewünschten Erfolg bringen [96]. Ausgedehnte Operationen, für die wiederum eine entsprechende operative Expertise erforderlich ist, sollten an ausgewiesenen Endometriosezentren durchgeführt werden, auch dies ist nicht immer gewährleistet.

Zwischenzeitlich folgen jahrelange hormonelle Therapien, die mit entsprechenden Nebenwirkungen, inbegriffen auch die damit zwangsläufig einhergehende kontrazeptive Wirkung, oft mehr be- als entlasten, kombiniert mit der rein symptomatischen Therapie der nicht-steroidalen Analgetika, für die es eigentlich keine evidenz-basierten Daten gibt und die ebenfalls erhebliche Nebenwirkungen aufweisen.

Ein Großteil der Patientinnen ist dennoch mit der 3-Säulentherapie zumindest über einige Jahre „beschwerdefrei“, doch bestehen etwa bei einem Drittel der Patientinnen chronische, therapieresistente Schmerzen, die keiner konventionellen Therapie zugänglich sind - eine für Betroffene und Kliniker unbefriedigenden Situation.

Daher sind weiterführende Untersuchungen im Bereich der Grundlagenforschung zum besseren Verständnis der Pathomechanismen und der Schmerzentstehung mit nachfolgender Entwicklung von gezielten innovativen Therapien unumgänglich.

## 5.1. Pathogenese

Bei der Endometriose als benigner Erkrankung wurde der lymphogenen Ausbreitung bislang keine große Relevanz zugesprochen, zumal sich bei Patientinnen mit Endometriose im Gegensatz zu malignen Erkrankungen keine LK-Rezidive beobachten lassen. Dennoch zeigt sich bei dieser Beobachtung, dass es sich bei der Endometriose um eine systemische Erkrankung handelt. Die lymphogene Ausbreitung von Endometriosezellen ist ein bislang unerforschter Aspekt bei der Pathogenese dieser komplexen Erkrankung, wobei die biologische Bedeutung des Vorkommens solcher EM-Läsionen und einzelner läsionaler Zellen in LK völlig ungeklärt ist. Aus dieser Beobachtung ergab sich daher die Frage nach möglichen klinischen Konsequenzen, die in weiteren prospektiven Studien untersucht werden sollten. Es ist zu klären, ob LK möglicherweise als Reservoir für Endometriosezellen fungieren, von dem ein Rezidivgeschehen ausgehen könnte. Weiterhin ist es denkbar, dass sich in der lymphogenen Dissemination der Endometriose eine potentielle immunologische Inkompetenz widerspiegelt wie beispielsweise eine durch Endometriosezellen-vermittelte supprimierte Immunantwort, die ihrerseits Grundlage für ein Persistieren der Erkrankung sein könnte.

Derzeit wissen wir nur, dass es sich bei den disseminierten intranodulären Zellen um ER/PR positive, aber CK und CD10 negative Zellen handelt. Diese Zellen sollten in weiteren immunhistochemischen Färbungen weiter charakterisiert werden, dabei sollten insbesondere Stammzellmarker und Markermoleküle der mesenchymal-epithelialen Transformation berücksichtigt werden.

Die infiltrative Wachstumsform der rektovaginalen Endometriose und der Nachweis einer signifikant erhöhten Lymphgefäßdichte in diesem Gewebe mit entsprechender Verschleppung von Endometriose in die ableitenden Lymphknoten lässt grundlegende molekularer Mechanismen vermuten, die die Streuung von Zellen begünstigen könnten. Daher sollten verschiedene Parameter an den Primärläsionen untersucht werden (Chemokinrezeptorexpression von CCR6, CCR4 und CCR7; Veränderungen des Tumorsuppressorgens TP53 und RASK Onkogen).

Weiterführende *in vitro* Versuche an primären Endometriomzellkulturen sollten zur Klärung der immunhistochemisch evaluierten inversen Korrelation der EGFR-1 und der ER $\alpha$ - Expression durchgeführt werden. Die Identifikation und Selektion von Endometriosesubtypen, die über einen alternativen östrogenunabhängigen survival pathway verfügen bzw. diesen hochregulieren können, sind hinsichtlich der Entwicklung

von spezifischen Therapien von essentieller Bedeutung.

## **5.2. Schmerzmechanismen**

Für eine Vielzahl der Patientinnen bleiben Schmerzen auch nach erfolgter operativer Therapie oder Hormonbehandlung Bestandteil ihres täglichen Lebens. Die Möglichkeit, eine gute Symptomkontrolle mit Analgetika zu erreichen, wurde bislang kaum in Studien untersucht. Nur für den Einsatz bei der Dysmenorrhoe liegen Studien mit nicht-steroidalen Antiphlogistika (NSAIDs) vor. Hier konnte eine befriedigende Schmerzreduktion gezeigt werden [97,98]. Über die Wirksamkeit von Opioiden für die Indikation des Endometriose-assoziierten Schmerzes liegen keine Studien vor. Das pathophysiologische Konzept der Schmerztherapie bei Endometriose ist die Stimulation nozizeptiver Nervenendigungen durch proinflammatorische Mediatoren wie IL-8 [99]. In der gynäkologischen Praxis zeigt sich aber, dass nur ein Teil der Patientinnen unter einer Kombinationsbehandlung mit NSAIDs und Opioidanalgetika ausreichend Schmerz-kontrolliert ist [100]. Außerdem zeigt sich, dass nur die Hälfte der Patientinnen über „Endometriose-typische“ intermittierende oder Menstruations-assoziierte Schmerzen berichten, während die andere Hälfte über dauerhafte Schmerzen klagt [101]. Letztere Schmerzen bleiben häufig unverstanden und führen mitunter zu psychosomatischen Therapieversuchen unter der Vorstellung, dass Malakognitionen, negative Konditionierungen, depressive oder Angststörungen oder „sozialer Stress“ (nach dem bio-psycho-sozialen Konzept der Schmerzchronifizierung) ursächlich sein könnten. Diese dauerhaften Schmerzen werden häufig als „brennend“ oder „stechend“ beschrieben, eine systematische Erfassung von Endometriose-assoziierten Schmerzqualitäten ist jedoch bislang nicht publiziert. Als mögliche Ursache dieser von der Schmerzqualität her „neuropathischen“ Schmerzen ist die „neural invasion theory“ [101] propagiert worden. Passend zu dieser Hypothese zeigen die vorgestellten Daten Nervenfasern mit sensiblen Anteilen in enger Lokalisation zu peritonealen Endometrioseläsionen, auch andere Arbeitsgruppen konnten dies mittlerweile nachweisen [55]. Weiterhin scheinen diese Nervenlokalisationen häufiger in peritonealen Endometrioseläsionen von Patientinnen mit starken Schmerzen aufzutreten als bei solchen mit geringer Symptomatik [102].

Neuropathische Schmerzen sprechen typischerweise nur teilweise oder gar nicht auf eine Therapie mit NSAIDs oder Opioiden an. Unter Berücksichtigung des Nachweises von Nervenfasern in engem Kontakt zur peritonealen Endometrioseläsion und oftmals typischen neuropathischen Schmerzcharakter besteht die Hypothese, dass es sich bei

chronischen therapieresistenten EM-assoziierten UBS um neuropathische Schmerzen handelt. Eine Therapieoption für Patientinnen mit brennenden und dauerhaften Abdominalschmerzen bei Endometriose wären daher möglicherweise Kandidaten für eine Behandlung mit anti-neuropathisch wirksamen Koanalgetika (z.B. Antikonvulsiva oder Trizyklische Antidepressiva). Bislang sind keine Studien zum Einsatz von Koanalgetika beim chronischen Endometriose assoziiertem Schmerz publiziert worden.

Aufgrund der guten Verträglichkeit und der geringen Interaktion mit anderen Medikamenten käme das für die Therapie von neuropathischen Schmerzen zugelassene Koanalgetikum Gabapentin in Frage.

Die Wirksamkeit von Gabapentin sollte in der Behandlung von chronischen UBS bei Endometriose getestet werden. Es wurden bereits 30 Patientinnen, die aufgrund chronischer therapieresistenter Schmerzen vorstellig wurden, im Rahmen eines individuellen Therapieversuchs mit Gabapentin behandelt. Die Patientinnen beantworteten Fragebögen zum Schmerzverlauf vor Beginn der Medikation und fünf weitere nach jeweils einer Woche. Diese Fragebögen wurden mit Hilfe einer Datenbank statistisch ausgewertet. Die Auswertung zeigte, dass Gabapentin eine wirkungsvolle, therapeutische Option, insbesondere bei chronischen therapieresistenten Schmerzen, darstellt (Mechsner et al., in Vorbereitung). Diese Untersuchungen sollten an einem größeren Patientenkollektiv fortgesetzt werden.

Es ist weiterhin unbedingt erforderlich, die Endometriose-assoziierten Nervenfasern eindeutig zu charakterisieren. Wir konnten sowohl myelinisierte A $\delta$ - als auch kleine unmyelinisierte C-Nervenfasern nachweisen. Eine andere Arbeitsgruppe konnte diese Nervenfasern als sensorische, cholinerge und adrenerge Nervenfasern charakterisieren [55]. Weiterhin wurden sensible und sympathische Nervenfaserteile in einem Endometriose-Rattenmodell nachgewiesen [53].

Künftige Charakterisierungen von Endometriose-assoziierten Nervenfasern sollten mit weiteren zuverlässigen neuronalen Markern (den Pan Marker S-100 und den NGF-Rezeptor p75) erfolgen. Weiterhin sollen Marker für sensible Nervenfasern (CGRP und SP), adrenerge (NPY) und cholinerge Fasern (VIP) getestet werden.

Mögliche neurotrophe Eigenschaften der Endometriose werden in einem neuronalen Wachstumsassay untersucht, bei dem hühnerembryonale Hinterwurzelganglien (dorsal root ganglia = DRG) mit Douglasflüssigkeit von Patientinnen mit und ohne Endometriose inkubiert werden. Vorläufige Daten bestätigen die vermehrte Nervenausprossung unter einer Inkubation der DRG mit Douglasflüssigkeit von Patientinnen mit Endometriose

(Barcena de Arellano et al., in Vorbereitung). In weiterführenden Untersuchungen müssen diese neurotrophen Substanzen identifiziert werden. Es muss getestet werden, ob dieser Effekt rein NGF-abhängig ist, oder ob noch weitere Nervenwachstumsfaktoren auf die Nervenausprossung Einfluss nehmen. Auch dieses Ergebnis ist für die Entwicklung von spezifischen therapeutischen Ansatzpunkten wichtig.

Peritoneale Endometriose-assoziierte Muskelzellen zeigen Charakteristika von Uterusmuskulatur (ER/PR und OTR-Expression). Vermutlich entstehen sie durch Metaplasie, wobei die Ursprungszellen bislang nicht identifiziert werden konnten. Feststeht jedoch, dass Muskeldifferenzierungsmarker in unterschiedlichem Ausmaß exprimiert werden. Nach wie vor wird die Theorie des Archimetra-Konzepts postuliert, in dem beschrieben wird, dass durch Hyper- und Dysperistaltik basale Zellen des Endometriums herauskatapultiert werden, die dann durch retrograde Menstruation in den Bauchraum gelangen und dort durch Metaplasie zu ektopen Endometrioseherden differenzieren können. Eine Klärung, ob die ektopen Zellen ihren Ursprung im Uterus nehmen, wäre ein entscheidender Fortschritt in dem Verständnis der Pathogenese und würde die Theorie erhärten, dass es sich bei der Endometriose um eine primäre Erkrankung des Uterus handelt. Daher sollte ein weiterer Schwerpunkt der zukünftigen Forschung auf die Charakterisierung insbesondere auf die Genese dieser peritonealen Endometriose-assoziierten Muskelzellen gelegt werden.

Von zusätzlichem Interesse sind Untersuchungen der Genese von peritonealen Endometriose-assoziierten Muskelzellen. Aktuelle Untersuchungen belegen, dass es sich um metaplastische Muskelzellen handelt. Dies konnte durch die Expressionsanalysen von Muskeldifferenzierungsmarkern (smooth muscle actin, Desmin, Caldesmon) dargestellt werden, die zeigen, dass sich Endometriose-assoziierten Muskelzellen in unterschiedlichen Differenzierungsstadien befinden. Morphologisch gesehen scheinen die Stromazellen Ausgangspunkt für die metaplastischen Prozesse zu sein, da sich im Stroma der höchste Anteil an unreifen Muskelzellen zeigt, die zur Peripherie hin weiter ausdifferenzieren (Mechsner et al., in Vorbereitung).

Mittels Mikrodissektion sollten solche Endometriose-assoziierten Muskelzellen aus dem Gewebeverband isoliert und weiter analysiert werden. Interessant sind dabei Genexpressionsanalysen, um möglicherweise den Ursprung des ektopen Gewebes zu klären.

Weiterhin sind *in vitro*-Untersuchungen geplant, mit dem Ziel, die Vorgänge

der Muskelzellmetaplasie zu untersuchen. Mittels primärer Endometriose- und Endometriumzellkulturen (Epithel- und Stromazellen, sowie isolierte Stromazellen bzw. Epithelzellen) soll unter Zugabe von TNF- $\beta$  (einem Muskeldifferenzierungsfaktor) geprüft werden, ob eine Muskeldifferenzierung aus dieser Zellpopulation provoziert werden kann.

Der Nachweis des OTR in Adenomyoseläsionen, die morphologischen Veränderungen der Architektur des Myometriums mit einer Adenomyose-assoziierten Muskelzellhyperplasie und die Beobachtung, dass der Übergang der Basalis in das angrenzende Myometrium bei Patientinnen mit Adenomyose sehr unregelmäßig im Vergleich zu Patientinnen ohne Adenomyose war, unterstützt die Theorie der basalen Ruptur infolge einer Hyperperistaltik.

Daher ergibt sich dringend die Aufgabe, die basale/myometriale Übergangszone ultrastrukturell zu analysieren. Dazu sind elektronenmikroskopische (EM) Untersuchungen geplant. Mit Hilfe der EM ist es möglich, die Zell-Zell-Kontakte zu analysieren. Im Falle einer Mikrotraumatisierung sollte diese sichtbar sein.

Da der OTR an der Koordination der uterinen Peristaltik involviert ist, stellt die Inhibition des Rezeptors eine spezifische Therapie der Dysmenorrhoe dar. Derartige Inhibitoren werden derzeit zur Therapie von vorzeitiger Wehentätigkeit eingesetzt. In den 80er Jahren waren bereits erste, erfolgreiche Studien zur Behandlung der primären Dysmenorrhoe durchgeführt worden. Damals war das Medikament noch so teuer, dass diese Option für die Therapie der Endometriose-assoziierten Dysmenorrhoe nicht weiter verfolgt wurde. Aktuell werden jedoch orale Inhibitoren entwickelt, die deutlich kostengünstiger sein werden.

Möglicherweise bieten neue Erkenntnisse in diesem Bereich auch neue therapeutische Ansatzpunkte in der Behandlung der Hyperperistaltik und der damit bedingten Infertilität. Durch eine spezifische Kontraktionskoordinierung durch OTR- und/oder VPR-Inhibitoren lässt sich möglicherweise die Schwangerschaftsrate im Rahmen der Kinderwunschbehandlung bei Endometriose/Adenomyose verbessern.

## 6. Literaturverzeichnis

1. Cramer DW MS (2002) The epidemiology of endometriosis. *Ann NY Acad Sci* 955:11- 22
2. Gao X, Outley J, Botteman M et al (2006) Economic burden of endometriosis. *Fertil Steril* 86:1561-1572
3. Giudice LC, Kao LC (2004) Endometriosis. *Lancet* 364:1789-1799
4. Mettler L (Hrsg.) *Endometriose 2000 pmi*, Frankfurt am Main, 2000
5. Olive DL, Pritts EA (2001) Treatment of endometriosis. *N Engl J Med* 345:266-275
6. Kuohung W, Jones GL, Vitonis AF et al (2002) Characteristics of patients with endometriosis in the United States and the United Kingdom. *Fertil Steril* 78:767-772
7. Schweppe KW (2002) Therapie der Endometriose unter Berücksichtigung der Aktivitätsgrade. *Der Gynäkologe* 35:255-260.
8. Sepulcri Rde P, do Amaral VF (2009) Depressive symptoms, anxiety, and quality of life in women with pelvic endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 142:53-56
9. The American Society for Reproductive Medicine. (1997) Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertil Steril* 67:817-821
10. Tuttlies F, Keckstein J, Ulrich U et al (2005) [ENZIAN-score, a classification of deep infiltrating endometriosis]. *Zentralbl Gynakol* 127:275-281
11. Albrecht (1955) Symptomatik der Endometriose *Zentralbla Gynakol* 53:125-130
12. Gruppo Italiano per lo Studio dell' Endometriosi GipIS (2001) Relationship between stage, site and morphological characteristics of pelvic endometriosis and pain. *Hum Reprod* 16:2668-2671
13. Witz CA, Burns WN (2002) Endometriosis and infertility: is there a cause and effect relationship? *Gynecol Obstet Invest* 53 Suppl 1:2-11
14. Knapp VJ (1999) How old is endometriosis? Late 17th- and 18th-century European descriptions of the disease. *Fertil Steril* 72:10-14
15. Meyer R (1930) Die Pathologie der Bindegewebsgeschwülste und der Mischgeschwülste. In Veit J, Stoeckel W (Hrsg.) *Handbuch der Gynäkologie*, 1. Aufl. JF Bergmann, München
16. Sampson JA (1927) Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Am J Obstet Gynecol* 422-429

17. Leyendecker G, Herbertz M, Kunz G et al (2002) Endometriosis results from the dislocation of basal endometrium. *Hum Reprod* 17:2725-2736
18. Leyendecker G, Kunz G (2005) [Endometriosis and adenomyosis]. *Zentralbl Gynakol* 127:288-294
19. Leyendecker G, Kunz G, Noe M et al (1998) Endometriosis: a dysfunction and disease of the archimetra. *Hum Reprod Update* 4:752-762
20. Leyendecker G, Wildt L, Mall G (2009) The pathophysiology of endometriosis and adenomyosis: tissue injury and repair. *Arch Gynecol Obstet* 280:529-538
21. Kunz G, Herbertz M, Noe M et al (1998) Sonographic evidence for the involvement of the utero-ovarian counter-current system in the ovarian control of directed uterine sperm transport. *Hum Reprod Update* 4:667-672
22. Kunz G, Leyendecker G (2002) Uterine peristaltic activity during the menstrual cycle: characterization, regulation, function and dysfunction. *Reprod Biomed Online* 4 Suppl 3:5-9
23. Kunz G, Noe M, Herbertz M et al (1998) Uterine peristalsis during the follicular phase of the menstrual cycle: effects of oestrogen, antioestrogen and oxytocin. *Hum Reprod Update* 4:647-654
24. Bulun SE (2009) Endometriosis. *N Engl J Med* 360:268-279
25. Anaf V, Simon P, Fayt I et al (2000) Smooth muscles are frequent components of endometriotic lesions. *Hum Reprod* 15:767-771
26. Mechsner S, Bartley J, Loddenkemper C et al (2005) Oxytocin receptor expression in smooth muscle cells of peritoneal endometriotic lesions and ovarian endometriotic cysts. *Fertil Steril* 83 Suppl 1:1220-1231
27. Fujii S, Konishi I, Mori T (1989) Smooth muscle differentiation at endometriomyometrial junction. An ultrastructural study. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 414:105-112
28. Bulletti C, de Ziegler D, Polli V et al (2000) Uterine contractility during the menstrual cycle. *Hum Reprod* 15 Suppl 1:81-89
29. Akerlund M (1997) Contractility in the nonpregnant uterus. *Ann N Y Acad Sci* 828:213-222
30. Takahashi K, Nagata H, Kitao M (1989) Clinical usefulness of determination of estradiol level in the menstrual blood for patients with endometriosis. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 41:1849-1850
31. Gashaw I, Hastings JM, Jackson KS et al (2006) Induced endometriosis in the

- baboon (*Papio anubis*) increases the expression of the proangiogenic factor CYR61 (CCN1) in eutopic and ectopic endometria. *Biol Reprod* 74:1060-1066
32. Leyendecker G, Kunz G, Wildt L et al (1996) Uterine hyperperistalsis and dysperistalsis as dysfunctions of the mechanism of rapid sperm transport in patients with endometriosis and infertility. *Hum Reprod* 11:1542-1551
  33. Hornung D, Ryan IP, Chao VA et al (1997) Immunolocalization and regulation of the chemokine RANTES in human endometrial and endometriosis tissues and cells. *J Clin Endocrinol Metab* 82:1621-1628
  34. Osteen KG, Bruner KL, Sharpe-Timms KL (1996) Steroid and growth factor regulation of matrix metalloproteinase expression and endometriosis. *Semin Reprod Endocrinol* 14:247-255
  35. Tseng JF, Ryan IP, Milam TD et al (1996) Interleukin-6 secretion in vitro is up-regulated in ectopic and eutopic endometrial stromal cells from women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 81:1118-1122
  36. Nair AS, Nair HB, Lucidi RS et al (2008) Modeling the early endometriotic lesion: mesothelium-endometrial cell co-culture increases endometrial invasion and alters mesothelial and endometrial gene transcription. *Fertil Steril* 90:1487-1495
  37. Dmowski WP, Gebel HM, Rawlins RG (1989) Immunologic aspects of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 16:93-103
  38. Osteen KG, Sierra-Rivera E (1997) Does disruption of immune and endocrine systems by environmental toxins contribute to development of endometriosis? *Semin Reprod Endocrinol* 15:301-308
  39. Akoum A, Jolicoeur C, Boucher A (2000) Estradiol amplifies interleukin-1-induced monocyte chemotactic protein-1 expression by ectopic endometrial cells of women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 85:896-904
  40. Ulukus EC, Ulukus M, Seval Y et al (2005) Expression of interleukin-8 and monocyte chemotactic protein-1 in adenomyosis. *Hum Reprod* 20:2958-2963
  41. Vercellini P, Somigliana E, Daguati R et al (2008) Postoperative oral contraceptive exposure and risk of endometrioma recurrence. *Am J Obstet Gynecol* 198:504 e501-505
  42. Sampson (1927) Metastatic or embolic endometriosis due to menstrual dissemination of endometrial tissue into venous circulation. *Am J Pathol* 93-109
  43. Abrao MS, Podgaec S, Dias JA, Jr. et al (2006) Deeply infiltrating endometriosis affecting the rectum and lymph nodes. *Fertil Steril* 86:543-547

44. Noel JC, Chapron C, Fayt I et al (2008) Lymph node involvement and lymphovascular invasion in deep infiltrating rectosigmoid endometriosis. *Fertil Steril* 89:1069-1072
45. Vercellini P, Somigliana E, Vigano P et al (2009) Chronic pelvic pain in women: etiology, pathogenesis and diagnostic approach. *Gynecol Endocrinol* 25:149-158
46. Drake TS, O'Brien WF, Ramwell PW et al (1981) Peritoneal fluid thromboxane B2 and 6-keto-prostaglandin F1 alpha in endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 140:401-404
47. Moon Y, Leung P, Ho Y (1981) Prostaglandin F in human endometriotic tissue. *Am J Obstet Gynecol* 141:344
48. Vernon MW, Beard JS, Graves K et al (1986) Classification of endometriotic implants by morphologic appearance and capacity to synthesize prostaglandin F. *Fertil Steril* 46:801-806
49. Anaf V, Simon P, El Nakadi I et al (2002) Hyperalgesia, nerve infiltration and nerve growth factor expression in deep adenomyotic nodules, peritoneal and ovarian endometriosis. *Hum Reprod* 17:1895-1900
50. Al-Fozan H, Bakare S, Chen MF et al (2004) Nerve fibers in ovarian dermoid cysts and endometriomas. *Fertil Steril* 82:230-231
51. Anaf V, Simon P, El Nakadi I et al (2000) Relationship between endometriotic foci and nerves in rectovaginal endometriotic nodules. *Hum Reprod* 15:1744-1750
52. Tulandi T, Felemban A, Chen MF (2001) Nerve fibers and histopathology of endometriosis-harboring peritoneum. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 8:95-98
53. Berkley KJ, Dmitrieva N, Curtis KS et al (2004) Innervation of ectopic endometrium in a rat model of endometriosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:11094-11098
54. Mechsner S, Schwarz J, Thode J et al (2007) Growth-associated protein 43-positive sensory nerve fibers accompanied by immature vessels are located in or near peritoneal endometriotic lesions. *Fertil Steril* 88:581-587
55. Tokushige N, Markham R, Russell P et al (2006) Nerve fibres in peritoneal endometriosis. *Hum Reprod* 21:3001-3007
56. Akerlund M (1987) Can primary dysmenorrhea be alleviated by a vasopressin antagonist? Results of a pilot study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 66:459-461
57. Akerlund M (2002) Involvement of oxytocin and vasopressin in the pathophysiology of preterm labor and primary dysmenorrhea. *Prog Brain Res* 139:359-365
58. Akerlund M, Andersson KE, Ingemarsson I (1976) Effects of terbutaline on myometrial activity, uterine blood flow, and lower abdominal pain in women with

- primary dysmenorrhoea. *Br J Obstet Gynaecol* 83:673-678
59. Akerlund M, Bossmar T, Brouard R et al (1998) Evidence for an involvement of vasopressin in mechanism of primary dysmenorrhea and effect of the non-peptide vasopressin V1a receptor antagonist, SR 49059, on the uterus of non-pregnant women. *Adv Exp Med Biol* 449:467-472
  60. Akerlund M, Melin P, Maggi M (1995) Potential use of oxytocin and vasopressin V1a antagonists in the treatment of preterm labour and primary dysmenorrhoea. *Adv Exp Med Biol* 395:595-600
  61. Akerlund M, Stromberg P, Forsling ML (1979) Primary dysmenorrhoea and vasopressin. *Br J Obstet Gynaecol* 86:484-487
  62. Akerlund M (1994) Vascularization of human endometrium. Uterine blood flow in healthy condition and in primary dysmenorrhoea. *Ann N Y Acad Sci* 734:47-56
  63. Akerlund M (1993) The role of oxytocin and vasopressin in the initiation of preterm and term labour as well as primary dysmenorrhoea. *Regul Pept* 45:187-191
  64. Ekstrom P, Akerlund M, Forsling M et al (1992) Stimulation of vasopressin release in women with primary dysmenorrhoea and after oral contraceptive treatment--effect on uterine contractility. *Br J Obstet Gynaecol* 99:680-684
  65. Stromberg P, Akerlund M, Forsling ML et al (1984) Vasopressin and prostaglandins in premenstrual pain and primary dysmenorrhea. *Acta Obstet Gynecol Scand* 63:533-538
  66. Lee KH, Khan-Dawood FS, Dawood MY (1998) Oxytocin receptor and its messenger ribonucleic acid in human leiomyoma and myometrium. *Am J Obstet Gynecol* 179:620-627
  67. Maggi M, Magini A, Fiscella A et al (1992) Sex steroid modulation of neurohypophysial hormone receptors in human nonpregnant myometrium. *J Clin Endocrinol Metab* 74:385-392
  68. Akerlund M, Stromberg P, Hauksson A et al (1987) Inhibition of uterine contractions of premature labour with an oxytocin analogue. Results from a pilot study. *Br J Obstet Gynaecol* 94:1040-1044
  69. Steinwall M, Akerlund M, Bossmar T et al (2004) ONO-8815Ly, an EP2 agonist that markedly inhibits uterine contractions in women. *Bjog* 111:120-124
  70. Steinwall M, Bossmar T, Gaud C et al (2004) Inhibitory effects of SR 49059 on oxytocin-and vasopressin-induced uterine contractions in non-pregnant women. *Acta Obstet Gynecol Scand* 83:12-18

71. Marnitz S, Kohler C, Bongardt S et al (2006) Topographic distribution of sentinel lymph nodes in patients with cervical cancer. *Gynecol Oncol* 103:35-44
72. Chapron C, Jacob S, Dubuisson JB et al (2001) Laparoscopically assisted vaginal management of deep endometriosis infiltrating the rectovaginal septum. *Acta Obstet Gynecol Scand* 80:349-354
73. Garry R, Clayton R, Hawe J (2000) The effect of endometriosis and its radical laparoscopic excision on quality of life indicators. *Bjog* 107:44-54
74. Ford J, English J, Miles WA et al (2004) Pain, quality of life and complications following the radical resection of rectovaginal endometriosis. *Bjog* 111:353-356
75. Possover M, Diebolder H, Plaul K et al (2000) Laparoscopically assisted vaginal resection of rectovaginal endometriosis. *Obstet Gynecol* 96:304-307
76. Camagna O, Dhainaut C, Dupuis O et al (2004) [Surgical management of rectovaginal septum endometriosis from a continuous series of 50 cases]. *Gynecol Obstet Fertil* 32:199-209
77. Darai E, Rouzier R, Ballester M et al (2008) Sentinel lymph node biopsy in gynaecological cancers: the importance of micrometastases in cervical cancer. *Surg Oncol* 17:227-235
78. Deffieux X, Raibaut P, Hubeaux K et al (2007) [Voiding dysfunction after surgical resection of deeply infiltrating endometriosis: pathophysiology and management]. *Gynecol Obstet Fertil* 35 Suppl 1:S8-13
79. Slack A, Child T, Lindsey I et al (2007) Urological and colorectal complications following surgery for rectovaginal endometriosis. *Bjog* 114:1278-1282
80. Spencer C, Robarts P (2008) Urological and colorectal complications following surgery for rectovaginal endometriosis. *Bjog* 115:539; author reply 539-540
81. Mangler M, Loddenkemper C, Lanowska M et al (2008) Histopathology-based combined surgical approach to rectovaginal endometriosis. *Int J Gynaecol Obstet* 103:59-64
82. Zanetti-Dallenbach R, Bartley J, Muller C et al (2008) Combined vaginal-laparoscopic-abdominal approach for the surgical treatment of rectovaginal endometriosis with bowel resection: a comparison of this new technique with various established approaches by laparoscopy and laparotomy. *Surg Endosc* 22:995-1001
83. Altgassen H, Brandstädt, Koehler, Dürst, Schneider (2008) The Sentinel Lymph Node Concept in Patients with Cervical Cancer - A Multicenter Validation Study. *Journal of Clinical Oncology* in press

84. Ballester M, Dubernard G, Rouzier R et al (2008) Use of the sentinel node procedure to stage endometrial cancer. *Ann Surg Oncol* 15:1523-1529
85. El-Ghobashy AE, Saidi SA (2009) Sentinel lymph node sampling in gynaecological cancers: techniques and clinical applications. *Eur J Surg Oncol* 35:675-685
86. Schneider A (2007) The sentinel concept in patients with cervical cancer. *J Surg Oncol* 96:337-341
87. Waller KG, Lindsay P, Curtis P et al (1993) The prevalence of endometriosis in women with infertile partners. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 48:135-139
88. Hynes NE, Lane HA (2005) ERBB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors. *Nat Rev Cancer* 5:341-354
89. Olayioye MA, Neve RM, Lane HA et al (2000) The ErbB signaling network: receptor heterodimerization in development and cancer. *Embo J* 19:3159-3167
90. Wiseman SM, Makretsov N, Nielsen TO et al (2005) Coexpression of the type 1 growth factor receptor family members HER-1, HER-2, and HER-3 has a synergistic negative prognostic effect on breast carcinoma survival. *Cancer* 103:1770-1777
91. Yarden RI, Lauber AH, El-Ashry D et al (1996) Bimodal regulation of epidermal growth factor receptor by estrogen in breast cancer cells. *Endocrinology* 137:2739-2747
92. McClelland RA, Barrow D, Madden TA et al (2001) Enhanced epidermal growth factor receptor signaling in MCF7 breast cancer cells after long-term culture in the presence of the pure antiestrogen ICI 182,780 (Faslodex). *Endocrinology* 142:2776-2788
93. Nicholson RI, Hutcheson IR, Harper ME et al (2002) Modulation of epidermal growth factor receptor in endocrine-resistant, estrogen-receptor-positive breast cancer. *Ann N Y Acad Sci* 963:104-115
94. Yarden Y, Sliwkowski MX (2001) Untangling the ErbB signalling network. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2:127-137
95. Kunz G, Beil D, Huppert P et al (2005) Adenomyosis in endometriosis--prevalence and impact on fertility. Evidence from magnetic resonance imaging. *Hum Reprod* 20:2309-2316
96. Vercellini P, Barbara G, Abbiati A et al (2009) Repetitive surgery for recurrent symptomatic endometriosis: what to do? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 146:15-21
97. Cobellis L, Razzi S, De Simone S et al (2004) The treatment with a COX-2 specific

- inhibitor is effective in the management of pain related to endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 116:100-102
98. Corson SL, Bolognese RJ (1978) Ibuprofen therapy for dysmenorrhea. *J Reprod Med* 20:246-252
  99. Osuga Y (2008) Novel therapeutic strategies for endometriosis: a pathophysiological perspective. *Gynecol Obstet Invest* 66 Suppl 1:3-9
  100. Allen C, Hopewell S, Prentice A et al (2009) Nonsteroidal anti-inflammatory drugs for pain in women with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev* CD004753
  101. (2008) Treatment of pelvic pain associated with endometriosis. *Fertil Steril* 90:S260-269
  102. Mechsner S, Kaiser A, Kopf A et al (2008) A pilot study to evaluate the clinical relevance of endometriosis-associated nerve fibers in peritoneal endometriotic lesions. *Fertil Steril*