

Isabell Nathalie Holzer

Dr. med.

Expression von GRN, NOTCH3, FN1 und PINK1 im eutopen Endometrium – potenzielle stadienabhängige Biomarker der Endometriose

Fach/Einrichtung: Frauenheilkunde

Doktormutter: Prof. Dr. med. Ariane Germeyer

Endometriose bezeichnet das Vorkommen von Endometriumzellen außerhalb ihrer physiologischen Lage im Cavum uteri. Sie ist eine der häufigsten gynäkologischen Erkrankungen und betrifft schätzungsweise 10 % aller Frauen im reproduktiven Alter. Leitsymptome der Erkrankung sind Dysmenorrhoe, Dyspareunie, abdominelle Schmerzen sowie Subfertilität, das Beschwerdebild ist jedoch heterogen. Trotz des häufigen Vorkommens und dem hohen Leidensdruck der betroffenen Frauen, sind die Pathophysiologie und molekularen Mechanismen der Erkrankung noch nicht vollständig geklärt. Aufgrund des Fehlens eines klinischen Biomarkers zum Nachweis einer Endometriose, ist derzeit eine laparoskopische Operation mit histopathologischer Befundung zur Diagnosesicherung erforderlich. In Anbetracht der unspezifischen Symptomatik, der invasiven Diagnostik sowie dem mangelnden Bewusstsein der Erkrankung, verzögert sich die Diagnose auf durchschnittlich sieben bis elf Jahre nach Auftreten der ersten Symptome.

Ziel dieser Studie war es, die unterschiedlichen Stadien der Endometriose im Hinblick auf die Expression von spezifischen Genen und Proteinen genauer zu untersuchen und potenzielle klinische Biomarker zu detektieren, um gegebenenfalls die Erkrankung beziehungsweise den Schweregrad der Endometriose ohne die Notwendigkeit einer abdominalen Operation bestimmen zu können. Dabei wurde der Fokus im Rahmen dieser Studie auf GRN, NOTCH3, FN1 und PINK1 gelegt. Jedes dieser Gene beziehungsweise Proteine wurde bereits im Zusammenhang mit Proliferation, Invasion oder Neoangiogenese sowie in der Pathophysiologie anderer chronischer Erkrankungen beschrieben. Da diese Faktoren auch für die Entstehung und Fortschreitung einer Endometriose entscheidend sind, wurden diese vier Gene und Proteine zur Analyse im endometrialen Gewebe von Frauen mit und ohne Endometriose gewählt.

Insgesamt wurden 58 eutope Endometriumproben von Frauen untersucht, welche sich aus benignen Gründen einer Laparoskopie unterzogen. Alle Frauen gaben ihr informiertes Einverständnis zur Teilnahme an der Studie (Ethikkommission Heidelberg). Die Gewebeproben wurden anhand der überarbeiteten Klassifikation der *American Society for*

Reproductive Medicine in die drei Grade minimale, milde und moderate Endometriose sowie einer Kontrollgruppe ohne die Erkrankung eingeteilt. Für die mRNA Analyse wurden die Proben mit Hilfe einer quantitativen Echtzeit Polymerasekettenreaktion untersucht. Die Untersuchung der Proteine wurde sowohl mittels einer immunhistochemischen Färbung als auch anhand eines Enzym-gekoppelten Immunadsorptionsassays durchgeführt. Die statistische Analyse erfolgte mittels des parametrischen Students t-Tests sowie des nichtparametrischen Mann-Whitney-U-Tests. Das Signifikanzniveau wurde zuvor auf $p < 0,05$ festgelegt.

Die Resultate dieser Studie zeigen einen signifikanten Unterschied bezüglich der Gen- und Proteinexpression von GRN, NOTCH3, FN1 und PINK1 innerhalb der verschiedenen Stadien der Endometriose als auch im Vergleich von betroffenen Frauen zu der Kontrollgruppe. Bei der mRNA Expression weisen alle vier Gene insbesondere im Stadium mit minimaler Endometriose eine Überexpression im Vergleich zu der Kontrollgruppe auf. Dagegen zeigt sich auf Proteinebene eine verminderte Expression bei Frauen mit Endometriose im Vergleich zu nicht betroffenen Frauen. Mehr noch, weisen insbesondere GRN und FN1 eine signifikante Reduktion der Proteinexpression in Abhängigkeit des Schweregrads der Erkrankung auf, das heißt, je fortgeschrittener die Endometriose, desto geringer die Proteinmenge. Die Immunhistochemie bestätigt das Vorkommen aller vier untersuchten Proteine im endometrialen Gewebe. Während alle Proteine eine positive Färbung in den Stromazellen aufweisen, unterscheiden sie sich abhängig ihrer spezifischen Eigenschaften bezüglich der Intensität und Lokalisation in den endometrialen Endothel- und Epithelzellen sowie im nukleären und zytoplasmatischem Kompartiment.

Die Resultate dieser Studie lassen eine Funktion der vier untersuchten Gene beziehungsweise Proteine im Zusammenhang mit der Entstehung und/oder Aufrechterhaltung der Endometriose vermuten. Die unterschiedliche Expression sowohl auf Gen- als auch Proteinebene, nicht nur zwischen Frauen mit und ohne die Erkrankung, sondern auch innerhalb der verschiedenen Stadien der Endometriose, unterstützt die Hypothese einer unterschiedlichen Entität und Pathophysiologie zwischen eines milden und schweren Stadiums der Erkrankung. Darüber hinaus eröffnen die Resultate insbesondere von GRN und FN1 neue Möglichkeiten in Bezug auf potenzielle klinische Biomarker für die Diagnosesicherung einer Endometriose. Zudem könnten die untersuchten Proteine basierend auf den erhobenen Ergebnissen für eine Differenzierung der zugrundeliegenden Stadien der Endometriose nützlich sein. Aufgrund der geringen Stichprobengröße ist diese Studie als Pilotstudie zu sehen und es benötigt weitere Forschung, um die Ergebnisse und möglichen Rückschlüsse zu validieren und zu erweitern.