

## ZUSAMMENFASSUNG (Deutsch)

**Einleitung:** Das Ovarialkarzinom kann als ein endokrinologisch-assoziiertes Tumor angesehen werden. Eine abnorme Östrogenaktivität ist als Risikofaktor für die Entstehung eines Ovarialkarzioms beschrieben. Die pleiotropen Effekte des Östrogens werden über  $ER\alpha$  und  $ER\beta$  Östrogenrezeptoren moduliert. Die Expression dieser Östrogenrezeptoren zeigte in mehreren Untersuchungen jedoch nur eine untergeordnete Bedeutung für die Prognose beim Ovarialkarzinom. Desweiteren sind nur niedrige Ansprechraten für antihormonelle Therapien beim Ovarialkarzinom beschrieben. Es konnte nachgewiesen werden, dass eine Unterfamilie von sog. „Orphan“-Rezeptoren, d.h. Östrogenrezeptor-assoziierten Rezeptoren (estrogen receptor-related receptors, ERRs) die Transkription einzelner Östrogen sensibler Gene über Varianten der „estrogen-responsive elements“ (EREs) moduliert.

Ziel der vorliegenden Studie ist es, den Zusammenhang zwischen der Familie der Orphan“-Rezeptoren ( $ERR\alpha$ ,  $ERR\beta$ ,  $ERR\gamma$ ), deren isoformen Transkriptionsprodukten ( $hERR\alpha-1$ ,  $hERR\beta-2$ ) und der klinisch-histopathologischen Faktoren des Ovarialkarzinoms zu untersuchen, da hierzu bisher nur marginale Daten existieren.

**Methoden:** Für den Nachweis der subzellulären Lokalisation der ERRs wurde ein spezielles Plasmid ( $hERR\alpha$ -GFP) synthetisiert und in Ovarialkarzinom-Zelllinien (SKOV-3 und OVCAR-3) transfiziert. Der Nachweis der Expression des  $hERR\alpha$ -GFP Fusionsproteins auf dem Zellkern erfolgte mittels eines zweifarbigem konfokalen Scanmikroskops. Nach Transfektion mit dem HA-tag- $hERR\gamma$ -Plasmid wurde ein HA- $hERR\gamma$  Fusionsprotein in der Nuklear-Proteinextraktion der Ovarialkarzinom-Zelllinien SKOV-3, OVCAR-3 und ES-2 mittels Western-Blot Analyse nachgewiesen. Die Analyse der Protein- und mRNA-Expression von ERR Isoformen erfolgte an 5 Ovarialkarzinom-Zelllinien, 33 primären Ovarialkarzinomen und 12 Normalgeweben des Ovars mittels Immunhistochemie und Light-cycle RT-PCR.

**Ergebnisse:** Bei Ovarialkarzinomen zeigten 57,6% (19) eine  $hERR\alpha$ -Expression, 3 (9,1%) eine  $hERR\beta$ -Expression und 48,5% (16) eine  $hERR\gamma$ -Expression. Bei den Normalgeweben des Ovars wurde folgender Verteilung beobachtet: 16,7% (2), 0% (0) und 33,3% (4). Diese Unterschiede waren statistisch signifikant:  $hERR\alpha$  ( $p=0,02$ ) und  $hERR\gamma$  ( $p=0,045$ ). Weiterhin zeigte sich eine hohe Koexpression von  $hER\alpha$  und  $hERR\alpha$  in den Ovarialkarzinomen. Hierbei war eine erhöhte Expression von  $hERR\alpha$  mit einer niedrigen Expression von  $hER\alpha$  assoziiert. In den Normalgeweben des Ovars war die

hERR $\alpha$ /hERR $\alpha$  Rate höher im Vergleich zu den Ovarialkarzinomen.

Um die potentielle Rolle der ERRs als Biomarker für das Ovarialkarzinom weiter zu untersuchen, wurden Korrelationsanalysen zwischen der Expression der ERRs und dem Tumormarker CA-125 und klinisch-histopathologischen Faktoren und dem Überleben durchgeführt. Die CA-125 Konzentration wurde mittels ELISA bestimmt. Der mediane CA-125 Gehalt in der Gruppe der Ovarialkarzinome mit positiver hERR $\alpha$  Expression war signifikant erhöht im Vergleich zur Gruppe der Ovarialkarzinome, die hERR $\alpha$  nicht exprimierten ( $p=0,012$ ). Die Expression von hERR $\beta$  bzw. hERR $\gamma$  zeigten keinen statistisch signifikanten Zusammenhang mit dem CA-125 Level ( $p=0,795$  bzw.  $0,515$ ). Weiterhin fand sich eine signifikante Korrelation zwischen der Expression von hERR $\alpha$  und dem Tumormarker CA-125 ( $p=0,012$ ). Das progressionsfreie Überleben und das Gesamtüberleben wurden mittels der Kaplan-Meier Methode bestimmt. Die Expression von hERR $\alpha$  zeigte in der multivariaten Analyse eine unabhängige prognostische Signifikanz für das Überleben (RR: 3,032; 95% KI: 1,27-6,06). Ausserdem korrelierte eine erhöhte Expression von hERR $\alpha$  mit einem erhöhten CA-125 Level, einem fortgeschritteneren FIGO-Tumorstadium, schlecht differenzierten Ovarialkarzinomen und einer kürzeren Gesamtüberlebenszeit. Die erhöhte Expression von hERR $\gamma$  korrelierte signifikant mit einem früheren FIGO-Tumorstadium ( $p=0,040$ ) und längerem progressionsfreiem Überleben ( $p=0,020$ ). Zudem zeigte sich ein Zusammenhang zwischen einer erhöhten Expression von hERR $\gamma$  und niedrigeren CA-125 Levels sowie einer geringeren intraoperativen Aszitesmenge. Die Überlebensanalysen zeigten ein signifikant kürzeres Gesamtüberleben in der Gruppe der hERR $\alpha$ -positiven Ovarialkarzinome ( $p=0,015$ ) und ein signifikant längeres progressionsfreies Überleben in der Gruppe der hERR $\gamma$ -positiven Ovarialkarzinome ( $p=0,020$ ).

**Schlussfolgerungen:** Die Expression von ERRs ist hauptsächlich im Zellkern nachzuweisen. Die Orphan Rezeptoren hERR $\alpha$  und hERR $\gamma$  scheinen eine relevante Rolle in der Tumorgenese des Ovarialkarzinoms zu spielen, so ist eine erhöhte Expression von hERR $\alpha$  mit fortgeschritteneren Tumorstadien sowie einem aggressiveren malignem Potential assoziiert. ERR $\alpha$  und ERR $\gamma$  können somit potentielle therapeutische Targets für das Ovarialkarzinom darstellen.

**Schlüsselwörter:**

**Orphan Rezeptor, Östrogenrezeptor-assoziierte Rezeptoren, Ovarialkarzinom, Tumormarker, Prognose**