

Aus dem Institut für Pathologie
der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

Immunhistochemische Untersuchung der
eukaryotischen Initiationsfaktoren 4-6 in Neoplasien
des Ovars

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Doktorgrades
Dr. med.
(doctor medicinae)
an der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

vorgelegt
aus
Magdeburg

von Baban Alan Sharif
Hannover
2022

Dokumentationsblatt

Bibliografische Beschreibung:

Sharif, Baban Alan:

Immunhistochemische Untersuchung der eukaryotischen Initiationsfaktoren 4-6 in Neoplasien des Ovars – 2022 – 107 Blatt, 17 Abbildungen, 22 Tabellen.

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades Dr. med. (doctor medicinae) an der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

Kurzreferat:

Das Ovarialkarzinom gehört bis dato zu den bösartigen gynäkologischen Neubildungen mit der höchsten Mortalität. Spätes Auftreten von Symptomen ist unter anderem Grund für eine verzögerte Diagnosestellung. Die Erforschung von neuen Biomarkern könnten einen Teil dazu beitragen die Prognose dieser Krankheit zu verbessern.

In dieser Arbeit wurden die eukaryotischen Initiationsfaktoren eIF4A1, -4B, -4E, -4G, -5A1, -5A2, -5B und 6 hinsichtlich ihrer Proteinexpression in Ovarialtumoren untersucht und ein möglicher Zusammenhang mit klinisch-pathologischen Eigenschaften und Prognose analysiert. Methodisch wurden dabei Tissue Microarray- (TMA-)Schnitte, in den mehrere Gewebeproben enthalten sind, immunhistochemisch mit entsprechenden Antikörpern gefärbt.

Es wird erstmals über die eIF4B-Überexpression als unabhängiger, prognostisch günstiger Faktor für das krankheitsfreie Überleben (DFS) und Gesamtüberleben (OS) von Patientinnen mit invasiven Ovarialkarzinomen berichtet.

Schlüsselwörter: Eukaryotische Initiationsfaktoren - Ovarialkarzinom - Tissue micro array - Immunhistochemie - Überlebenszeitanalyse

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	I
Abbildungsverzeichnis	VI
Tabellenverzeichnis	VIII
1 Einleitung	1
1.1 Tumoren des Ovars	1
1.1.1 Epidemiologie und Ätiologie.....	1
1.1.2 Pathologie von Ovarialtumoren	4
1.1.3 Klinisches Management	12
1.2 Eukaryotische Initiationsfaktoren	14
1.2.1 Eukaryotische Translation – Proteinbiosynthese	14
1.2.2 Initiation der eukaryotischen Translation.....	14
1.2.3 Regulation der eukaryotischen translatorischen Initiation	16
1.2.4 Zusammenhang zwischen Translation und Karzinogenese	18
1.3 Zielsetzung der Arbeit.....	21
2 Material und Methoden	22
2.1 Materialien	22
2.1.1 Geräte.....	22
2.1.2 Chemikalien	22
2.1.3 Patientenkollektiv.....	23
2.1.4 Software zur statistischen Auswertung	25
2.2 Methoden	25
2.2.1 Sammlung und histologische Vorbereitung der Patientenfälle	25
2.2.2 Tissue micro array (TMA)	25

2.3	Immunohistochemische Färbung	29
2.3.1	Theorie der Immunohistochemie.....	29
2.3.2	Immunohistochemische Färbung der Tissue micro arrays.....	29
2.4	Auswertungsschema der immunhistochemischen Färbungen.....	30
2.4.1	Scoring-System	30
2.4.2	Statistische Auswertung	31
3	Ergebnisse.....	33
3.1	Klinisch-pathologische Daten des Patientenkollektivs	33
3.2	Expression der ausgewählten eIFs in Ovarialkarzinomen und Zystadenomen	35
3.3	Expression der eIFs im Kontrollgewebe	37
3.4	Ermittlung des Anteils an immunohistochemisch überexprimierten eIF-Proteinen in Ovarialkarzinomen und Zystadenomen.....	44
3.5	Korrelation der eIF-Expression und klinisch-pathologischen Eigenschaften von Ovarialkarzinomen	39
3.5.1	Korrelation zwischen eIF4A1-Expression und klinisch-pathologischen Daten	39
3.5.2	Korrelation zwischen eIF4B-Expression und klinisch-pathologischen Daten.....	39
3.5.3	Korrelation zwischen eIF5A2-Expression und klinisch-pathologischen Daten	40
3.5.4	Korrelation zwischen eIF5B-Expression und klinisch-pathologischen Daten.....	40
3.5.5	Korrelation zwischen eIF6-Expression und klinisch-pathologischen Daten	40
3.6	Überlebenszeitanalyse von eIF-Expression und klinisch-pathologischen Daten.....	42
3.6.1	Korrelation zwischen klinisch-pathologischen Daten und Krankheitsfreiem Überleben	42
3.6.2	Korrelation zwischen eIF-Expression und Krankheitsfreiem Überleben	42
3.6.3	Korrelation zwischen eIF-Expression und Gesamtüberleben.....	44
3.7	Univariate Analyse klinisch-pathologischer Eigenschaften und von eIF4B.....	45
3.8	Multivariate Analyse klinisch-pathologischer Daten und von eIF4B	46

4	Diskussion	48
4.1	Klinisch-Pathologische Eigenschaften des Patientenkollektivs	48
4.2	Vergleich der eIF-Expressionsmuster zwischen benignen Zystadenomen und invasiven Ovarialkarzinomen.....	49
4.3	Zusammenhang zwischen klinisch-pathologischen Eigenschaften und eIF-Expression in Ovarialkarzinomen	53
4.3.1	Überexpression von eIF4A1 hängt mit günstigen klinischen-pathologischen Faktoren zusammen	53
4.3.2	Überexpression von eIF4B hängt mit fortgeschrittenen pT- und pN-Stadien, gut differenzierten histologischen Eigenschaften und einer geringeren Rezidivrate zusammen	53
4.3.3	Überexpression von eIF5A2 hängt mit schlechtem Lymphknotenstatus zusammen	54
4.3.4	Überexpression von eIF5B ist in endometrioiden OC unterrepräsentiert	55
4.3.5	Überexpression von eIF6 korreliert mit prognostisch günstigen Faktoren.....	55
4.4	Zusammenhang zwischen eIF-Expression und Überleben der Patientinnen	56
4.4.1	Einfluss der eIF-Expression auf das krankheitsfreie Überleben und Gesamtüberleben	56
4.4.2	Univariate Überlebenszeitanalyse	56
4.4.3	Multivariate Cox-Regressionsanalyse	56
4.5	Limitationen und Vorzüge der vorliegenden Studie	57
4.5.1	Limitationen der Studie	57
4.5.2	Vorzüge der Studie	58
5	Zusammenfassung	59
6	Literaturverzeichnis	61
7	Anhang	74
7.1	Ehrenerklärung.....	74

7.2	Danksagung	75
7.3	Lebenslauf	76

Abkürzungsverzeichnis

\bar{x}	Mittelwert
5'-TOP Motif	5'-terminal oligopyrimidine-Motif
95% CI	95% Konfidenzintervall
Abb.	Abbildung
Ago-Familie	Argonautenproteine
AGO-OVAR	Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie - Ovar
ARID1A	AT-rich interactive domain- containing protein 1A
ASAP-1	Arf-GAP with SH3 domain, ANK repeat and PH domain-containing protein 1
ATM Kinase	Ataxia Telangiectasia Mutated Kinase
ATP	Adenosintriphosphat
BRAF	B-Raf Proto-Onkogen
BRCA1/2	Breast Cancer 1/2
BRIP1	BRCA1 Interacting Helicase 1
CA 125	Cancer-Antigen 125
CA 19-9	Cancer-Antigen 19-9
CC1-Lösung	Cell conditioning solution
CCC	Cholangiozelluläres Karzinom
CCNE1	Cyclin E1

CHEK2	Checkpoint kinase 2
COX11	classification of diseases and Cytochrome C Oxidase Copper Chaperone 11
CTNNB1	Catenin Beta 1
EC	Endometrioides Karzinom
eIF	eukaryotische Initiationsfaktor
ERB2	Avian erythroblastosis oncogene B2
Fc	Fragment crystallizable
FGFR2	Fibroblast growth factor receptor 2
FIGO	Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
G1-G3	Grad 1-3
GAP	GTPase-aktivierende Proteine
GCN2	General control nonderepressible 2
GDI	GDP-Dissoziations-Inhibitor
GDP	Guanosindiphosphat
GEF	Guanosine triphosphate Exchange Factor
GSK-3	Glykogensynthase-Kinase 3
GTP	Guanosintriphosphat
	Gynécologie et d'Obstétrique

HBOC	Hereditäres Mamma- und Ovarialkarzinom
HE	Hämatoxylin-Eosin
HE4	Humanes Epididymis Protein 4
HGSC	High-grade serous carcinoma
HIER	Heat induced epitope retrieval
HNPCC	Hereditäres nicht-Polyposis-assoziiertes kolorektales Karzinom
HRI	Heme-regulated eIF2 α kinase
HRP	Horseradish Peroxidase
ICD-10	International statistical
IgM IgG	Immunglobulin M G
IHC	Immunhistochemie
	kolorektales Karzinom
LAB	Labelled avidin biotin technique
LGSC	Low-grade serous carcinoma
MAP3K1	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 1
MC	Muzinöses Karzinom
miRNA	microRNA
MLH1/MSH2/MSH6	MutL homolog 1, MutS-Homolog 2, MutS Homolog 6
Mnk 1/2	MAP kinase-interacting serine/threonine-protein kinase 1/2

MPAK	Mitogen-activated Protein Kinase
mRNA	Messenger Ribonukleinsäure
mTOR	mechanistic Target of Rapamycin
NMD	nonsense-mediated decay
OC	Ovarian Carcinoma
ORF	open reading frame
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PABP	Poly(A)-Bindeprotein
PALB2	Partner and localizer of BRCA2
PARP-Inh.	Poly(ADP-ribose)-Polymerasen-Inhibitor
PCO-Syndrom	polyzystisches Ovarialsyndrom,
PERK	Protein Kinase RNA-like Endoplasmic Reticulum Kinase
PI3K	Phosphoinositid-3-Kinasen
PIC	Präinitiationskomplex
PIK3CA	Phosphatidylinositol-4,5- Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Alpha
PKR	Protein Kinase R
PTEN	Phosphatase and Tensin homolog
RACK1	Rezeptor für aktivierte C-Kinase 1
Ras-Erk-Mnk	MAPK/ERK pathway
RISC	RNA-induced silencing complex

RNA	Ribonukleinsäure
RNF43	Ring finger protein 43
ROMA	Risk of. Ovarian Malignancy Algorithm
S6K1/2	S6 kinase beta-1/ S6 kinase 2
SEM	Standardfehler
SI	Staining Index
SNRPB	Small nuclear ribonucleoprotein- associated proteins B
STIC	Serös tubare intraepitheliale Karzinom
TMA	Tissue micro array
TNM	TNM-Klassifikation, Tumor Nodus Metastasen
TOX3	TOX High Mobility Group Box Family Member 3
tRNA	transfer RNA
uORF	upstream open reading frame
UTR	untranslated region
VEGF	Vascular endothelial growth factor
WHO	World Health Organization
WT1	Wilms-Tumor-Protein 1
σ	Standardabweichung

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Exemplarisch histologische Schnitte ausgewählter Subtypen des epithelialen Ovarialkarzinoms in HE-Färbung.....	11
Abb. 2: Verteilung der histologischen Subtypen der invasiven Ovarialkarzinome.....	24
Abb. 3: Altersverteilung mit absoluten Häufigkeiten der in dieser Arbeit untersuchten Patientinnen mit invasivem Ovarialkarzinom.....	24
Abb. 4: TMA-Herstellung.....	27
Abb. 5: Schema der Erstellung eines gefärbten TMA-Schnitts.....	28
Abb. 6: Vergleich der durchschnittlichen Staining-Indices der ausgewählten eIFs zwischen Ovarialkarzinomen und benignen Zystadenom.....	XII
Abb. 7: Ausgewählte immunhistochemische Färbungen von gesundem OSE als Kontrollgewebe, benignen ovariellen Zystadenomproben sowie von Ovarialkarzinomproben mit eIF4A1-Antikörper.....	XIII
Abb. 8: Ausgewählte immunhistochemische Färbungen von gesundem OSE als Kontrollgewebe, benignen ovariellen Zystadenomproben sowie von Ovarialkarzinomproben mit eIF5A1-Antikörper.....	XIV
Abb. 9: Ausgewählte immunhistochemische Färbungen von gesundem OSE als Kontrollgewebe, benignen ovariellen Zystadenomproben sowie von Ovarialkarzinomproben mit eIF5A2-Antikörper.....	XV
Abb. 10: Ausgewählte immunhistochemische Färbungen von gesundem OSE als Kontrollgewebe, benignen ovariellen Zystadenomproben sowie von Ovarialkarzinomproben mit eIF5B-Antikörper.....	XVI
Abb. 11: Ausgewählte immunhistochemische Färbungen von gesundem OSE als Kontrollgewebe, benignen ovariellen Zystadenomproben sowie von Ovarialkarzinomproben mit eIF6-Antikörper.....	XVII

Abb. 12: Immunhistochemische Färbungen von OC-Proben in aufsteigender Farbtintensität und von OSE als Kontrolle mit eIF4B-Antikörper.....	XVIII
Abb. 13: Prozentualer Anteil an Überexpression von eIF4A1, -4B, -5A1, -5A2, -5B und 6 in invasiven Ovarialkarzinomen.....	XIX
Abb. 14: Vergleich des prozentualen Anteils an immunhistochemisch bestimmter Überexpression der eIF4A1, -4B, -5A1, -5A2, -5B und 6 zwischen Ovarialkarzinomen (OC) und benignen Zystadenomen in Balkendiagrammen.....	XX
Abb. 15: Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse (DFS) in Abhängigkeit von FIGO-Stadium und histologischem Grading bei invasiven Ovarialkarzinomen.....	42
Abb. 16: Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse (DFS) in Abhängigkeit der Expression von eIF 4A1, eIF4B, eIF5A2, eIF5B, und eIF6 in invasiven Ovarialkarzinomen.....	43
Abb. 17: Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse (Gesamtüberleben) in Abhängigkeit der Expression von eIF4A1, eIF4B, eIF5A2, eIF5B, und eIF6 in invasiven Ovarialkarzinomen.....	44-45

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Risiko- und protektive Faktoren bei der Entstehung des Ovarialkarzinoms.....	2
Tabelle 2: Auswahl verschiedener Gene mit erhöhtem Ovarialkarzinomrisiko.....	4
Tabelle 3: WHO-Einteilung der Ovarialtumoren.....	5
Tabelle 4: TNM- und FIGO-Klassifikation für Ovarial-/Tuben-/und Peritonealkarzinome.....	7-8
Tabelle 5: 5-Jahres-Überlebensrate in Abhängigkeit des FIGO-Stadiums.....	13
Tabelle 6: Auflistung der eIF2-inhibierenden Proteinkinasen.....	17
Tabelle 7: Auflistung der verwendeten primären Antikörper.....	23
Tabelle 8: Schematische Darstellung der Erfassung des Staining-Index als Maß der eIF- Expression.....	31
Tabelle 9: Klinisch-pathologische Daten der Patientenkohorte mit Ovarialkarzinomen.....	34
Tabelle 10: Semiquantitative Darstellung des immunohistochemischen Expressions- verhaltens von Ovarialkarzinomen.....	X
Tabelle 11: Semiquantitative Darstellung des immunohistochemischen Expressions- verhaltens von benignen Zystadenomen.....	XI
Tabelle 12: Mittelwerte der Staining-Indices der ausgewählten eIFs in Ovarialkarzinomen und benignen Zystadenomen mit Standardabweichung zur Veranschaulichung der Protein- expression.....	36
Tabelle 13: Mittelwerte der Staining-Indices (SI) ausgewählter eIFs für das OSE von Normalovarien mit Standardabweichung und den festgesetzten Cut-off Werten.....	37
Tabelle 14: Assoziation zwischen der Expression von eIF4A1 und der klinisch-pathologischen Eigenschaften der Patienten mit Ovarialkarzinom.....	XXI

Tabelle 15: Assoziation zwischen der Expression von eIF4B und der klinisch-pathologischen Eigenschaften der Patienten mit Ovarialkarzinom.....	XXII
Tabelle 16: Assoziation zwischen der Expression von eIF5A2 und der klinisch-pathologischen Eigenschaften der Patienten mit Ovarialkarzinom.....	XXIII
Tabelle 17: Assoziation zwischen der Expression von eIF5B und der klinisch-pathologischen Eigenschaften der Patienten mit Ovarialkarzinom.....	XXIV
Tabelle 18: Assoziation zwischen der Expression von eIF6 und der klinisch-pathologischen Eigenschaften der Patienten mit Ovarialkarzinom.....	XXV
Tabelle 19: Univariate Analyse des krankheitsfreien Überlebens (DFS) der Patientinnen mit Ovarialkarzinom.....	46
Tabelle 20: Univariate Analyse des Gesamtüberleben der Patientinnen mit Ovarialkarzinom.....	46
Tabelle 21: Multivariate Analyse des Gesamtüberleben der Patientinnen mit Ovarialkarzinom.....	47
Tabelle 22: Multivariate Analyse des Gesamtüberleben der Patientinnen mit Ovarialkarzinom.....	47

1 Einleitung

1.1 Tumoren des Ovars

1.1.1 Epidemiologie und Ätiologie

1.1.1.1 Epidemiologie

Das Ovarialkarzinom ist nach aktuellem Stand in Deutschland (2016) mit einer prozentualen Inzidenz von 3,1 % die achthäufigste Krebsart bei der Frau. Die altersstandardisierte Inzidenz liegt bei etwa 11 von 100.000 Frauen/Jahr und die Lebenszeitprävalenz bei 1-2%. Bis zum 85. Lebensjahr steigt die Inzidenz stetig an, danach bleibt die Zahl konstant. Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei etwa 68 Jahren. Zwischen den Jahren 1999 und 2017 hat die Inzidenz sowie Sterberate sukzessive abgenommen [1].

Unter den bösartigen gynäkologischen Neubildungen zeigt das Ovarialkarzinom die höchste Mortalität mit einer relativen 5-Jahres-Überlebensrate von derzeit 43 %. Dies ist unter anderem der späten Diagnosestellung verschuldet, wobei 76% erst in fortgeschrittenen Stadien (FIGO III/IV) diagnostiziert werden. Wird die Erkrankung jedoch in früheren Stadien erkannt, so steigt die Überlebensrate erheblich [1].

Im internationalen Vergleich zeigen Industrieländer eine deutlich höhere altersstandardisierte Inzidenz als in Entwicklungsländern (9,2 beziehungsweise 5,0 pro 100.000 Frauen/Jahr). Die höchste Inzidenz wurde in Zentral- und Osteuropa (11,4 pro 100.000 Frauen/Jahr) beschrieben, die niedrigste Inzidenz in Mikronesien und Westafrika (3,0 beziehungsweise 3,6 pro 100.000 Frauen/Jahr) [2].

1.1.1.2 Risikofaktoren und Protektive Faktoren

Neben hormonellen Risikofaktoren existieren eine Reihe von hereditären Erkrankungen, die mit einem stark erhöhten Risiko für die Entwicklung eines Ovarialkarzinoms einhergehen (siehe 1.1.1.3). Auch Umweltfaktoren wie Asbestexposition, sowie regionale Unterschiede haben einen Einfluss auf die Entstehung [2 - 4].

Zu den hormonellen Risikofaktoren zählen ununterbrochene Ovulationen im Rahmen von wenigen Schwangerschaften, einer Nullparität oder Infertilität, Endometriose, das PCO-Syndrom und Hormontherapien vor allem mit Östrogenmonopräparaten. Dagegen besteht momentan kein Konsens darüber, ob eine frühe Menarche und eine späte Menopause das Risiko erhöhen [1]. Der wichtigste Risikofaktor ist das Vorhandensein einer BRCA1- oder BRCA2-Mutation. Diese sind für 10 % der Ovarialkarzinome ursächlich. Das Lebenszeitrisiko einer Erkrankung liegt bei einer BRCA1-Mutation bei 40-50 %, bei einer BRCA2-Mutation bei 20-30%. Weitere Risikofaktoren sind vor allem das höhere Alter, die positive Anamnese eines Brustkarzinoms und laut neusten Studien auch Adipositas [5].

Der effektivste protektive Faktor bei hereditärem Ovarialkarzinom ist eine prophylaktische bilaterale Salpingo-Oophorektomie. Das Risiko einer Entwicklung eines Ovarial- oder Tubenkarzinoms kann auf diese Weise um 80 bis >90 % gesenkt werden [6, 7]. Bei Patientinnen mit nachgewiesenen Keimbahnmutationen in einem der Hochrisiko-Gene wird empfohlen über die Möglichkeit dieser operativ-prophylaktischen Maßnahme zu informieren [8]. Weitere protektive Faktoren sind Multiparität, lange Stillperioden (Laktation) und Zustand nach Tubenligatur und Hysterektomie, wahrscheinlich durch eine verminderte Durchblutung des Ovars. Die Verwendung von Ovulationshemmern senken ebenfalls das Risiko. Für Faktoren wie körperliche Aktivität und Rauchen konnten bis dato keine erhärtenden Daten geliefert werden [5]. Tabelle 1 zeigt eine zusammenfassende Darstellung der genannten Einflussfaktoren auf die Entwicklung eines Ovarialkarzinoms.

Tabelle 1: Risiko- und protektive Faktoren bei der Entstehung des Ovarialkarzinoms [1-8].

Risikofaktoren	Protektive Faktoren
Hohe Anzahl an Ovulationen	Orale Kontrazeption
Nullparität und Infertilität	Multiparität
PCO-Syndrom, Endometriose	Lange Stillperioden
Hereditäre Disposition wie BRCA1/2-Mutationen	Zustand nach Tubenligatur und Hysterektomie
Östrogen-/Gestageneinnahme	Prophylaktische bilaterale Salpingo-Oophorektomie
Alter	
Adipositas	
Asbestexposition	

1.1.1.3 Hereditäre Krankheiten

Die Beobachtung aus epidemiologischen Daten zeigt, dass ein Teil der Ovarialkarzinome familiär gehäuft auftreten und somit ein genetischer Zusammenhang vorhanden sein muss. So steigt das Risiko für die Entwicklung eines Ovarialkarzinoms bei Betroffenheit eines Verwandten 1. Grades von 1,6 % auf 5 %, liegen zwei Verwandte 1. Grades vor steigt das Risiko auf 7 %. Kriterien, die auf ein hereditäres Geschehen hinweisen sind folgende [9, S.129] :

- 1) Eine Frau in der Familie <40. Lebensjahr mit einem Ovarialkarzinom
- 2) Eine Frau mit einem Mamma- oder Ovarialkarzinom
- 3) Mindestens zwei Frauen in der Familie mit einem Ovarialkarzinom
- 4) Familiär gehäufte kolorektale Adenokarzinom mit früher Erstmanifestation (<50 J.) zusammen mit Endometrium- oder Ovarialkarzinomen (Lynch-Syndrom)
- 5) Keimbahnmutation in BRCA1/2, MLH1/MSH2 oder p53

Derzeit sind drei hereditäre Syndrome bekannt:

1. Das Familiäre Mamma- und Ovarialkarzinomsyndrom (HBOC) macht 90 % der hereditären Ovarialkarzinome aus und beruht auf einer Keimbahnmutation der Tumorsuppressorgene BRCA1 (Chromosom 17q21) oder BRCA2 (Chromosom 13q12-13). Die Vererbung erfolgt monogen, autosomal dominant mit unvollständiger Penetranz. Molekulargenetisch spielen die genannten Gene eine essentielle Rolle bei der DNA-Doppelstrangreparatur [10].
2. Das Lynch- oder HNPCC-Syndroms ist ebenfalls eine autosomal-dominante vererbte Krankheit, in dessen Rahmen unter anderem das Risiko für die Entwicklung eines Ovarial- und Endometriumkarzinoms steigt. Durch Mutationen der DNA-Mismatch-Reparaturgene MLH1, MSH2 und MSH6 folgt eine Mikrosatelliteninstabilität, welche bei der genetischen Diagnostik als Marker genutzt werden kann. Die Amsterdam II- und modifizierten Bethesda-Kriterien dienen als Leitstruktur zur Durchführung einer HNPCC-Analyse bei einer Person mit erhöhtem familiärem Risiko [11]. Das geschätzte Lebenszeitrisiko für die Entstehung eines Ovarialkarzinoms beträgt nach epidemiologischen Daten 12 % [12]. Histologisch liegt bei einem überwiegenden Teil der Fälle ein endometrioider Subtyp vor und ist im Vergleich zum serösen Subtyp mit einer besseren Prognose verbunden [13] (zu den einzelnen Subtypen siehe Kapitel 1.1.2.5).

3. Keimbahnmutationen des TP53-Gens (Chromosom 17p13), welches für den Tumorsuppressor p53 kodiert, führen zum Bild eines Li-Fraumeni-Syndroms. Mutationen in dem Bereich sind sehr selten und machen <1 % der hereditären Ovarialkarzinome aus. Die Patientinnen haben ein erhöhtes Malignomrisiko für verschiedene Organsysteme, wie zum Beispiel für Osteo-/Weichteilsarkome, Hirntumore, Mamma-, Lungen-, Prostata- Ovarialkarzinome und viele mehr. Oft treten Neoplasien bereits im Kindesalter auf [14].

Neben den genannten drei Syndromen existieren eine große Anzahl weiterer Genmutationen, die mit einem erhöhten Ovarialkarzinomrisiko verbunden sind, wie zum Beispiel RAD51C und BRIP1. Beide letztgenannten Gene interagieren mit BRCA1/2 in der DNA-Reparatur [15]. Tabelle 2 zeigt eine Auswahl an verschiedenen Genen mit Einfluss auf die Ausbildung eines Ovarialkarzinoms, eingeteilt nach Risikogruppen.

Tabelle 2: Auswahl verschiedener Gene mit erhöhtem Ovarialkarzinomrisiko [16].

Hoch penetrante Gene	BRCA1/2, RAD51C, TP53, PTEN
Moderat penetrante Gene	CHEK2, BRIP1, PALB2, ATM
Niedrigrisikogene	FGFR2, TOX3, MAP3K1, SNRPB, COX11

1.1.2 Pathologie von Ovarialtumoren

1.1.2.1 WHO-Klassifikation ovarialer Tumoren

Die WHO-Klassifikation der ovariellen Tumoren wurde 2014 aktualisiert, insbesondere wurden neue pathogenetische, molekulargenetische und prognostische Eigenschaften der Ovarialkarzinome mit in Betracht gezogen [17]. Weiterhin werden Tumore des Ovars histogenetisch nach dem Ursprungsgewebe eingeteilt. Im Ovar finden sich drei unterschiedliche Gewebekomponenten wieder, die jeweils möglicher Ursprung für die Tumorbildungen sein können. Je nach Ursprungsgewebe werden Ovarialtumoren laut WHO eingeteilt in [17], [18] (S. 440–447):

1. Epitheliale Tumoren (65 - 75 %): Größte Gruppe, gehen vom Oberflächenepithel des Ovars aus zusammen mit dem angrenzenden Stroma (modifiziertes Mesothel) oder dem Tubenepithel (siehe 1.1.2.4)

2. Keimzelltumoren (10 - 20 %): Entstehen aus den ovariellen Eizellen
3. Keimstrangstromatumoren (5 - 10 %): Entspringen vom primitiven Keimstrang (Granulosa- und Sertoli-Zellen) oder aus Theka- und Leydig-Zellen.

Tabelle 3 zeigt einen Ausschnitt der aktuellen WHO-Einteilung von ovariellen Tumoren.

Tabelle 3: WHO-Einteilung der Ovarialtumoren (2014) [17].

Epitheliale Tumoren:

- Seröse Tumoren
- Muzinöse Tumoren
- Endometrioiden Tumoren
- Klarzellige Tumoren
- Brennertumoren
- Seromuzinöse Tumoren
- Undifferenzierte Karzinome

Keimzelltumoren:

- Teratom
- Dysgerminom
- Dottersacktumore
- Nicht-gestationales Chorionkarzinom

Keimstrang-Stroma-Tumoren:

- Granulosazelltumore
- Thekome
- Sertoli-Leydig-Zelltumore

Keimzell-Keimstrang-Tumoren:

- Gonadoblastome
 - Gemischte Keimzell-Keimstrang-Stromatumoren
-

Die Subtypen der epithelialen Tumoren werden nochmals in benigne, maligne Tumoren und Borderline-Tumoren unterteilt. Borderline-Tumoren zeigen dabei sowohl Eigenschaften von malignen, als auch von benignen Tumoren. Es sind nicht invasiv-wachsende Neubildungen mit atypischer Epithelproliferation, die höhergradiger sind als bei benignen Tumoren. Die serösen und muzinösen Subtypen sind dabei am häufigsten anzutreffen. Rezidive mit Übergang in ein invasiv wachsendes Karzinom sind möglich [19].

Unter den ovariellen Malignomen machen die epithelialen Ovarialkarzinome 90 % aus. Histologisch handelt es sich um eine äußerst heterogene Gruppe, die sich in Ursprungsgewebe, Pathogenese, molekulargenetischen Eigenschaften und Prognose unterscheidet [3]. Demnach ist es für die Prognose des Patienten von signifikanter Bedeutung den histologischen Typ eines Ovarialkarzinoms festzustellen. Eine endgültige Beurteilung des Subtyps ist in einigen Fällen allein mikroskopisch nicht möglich, sodass von dem Pathologen zur Diagnosestellung zusätzlich immunhistochemische und molekularpathologische Eigenschaften hinzugezogen werden müssen. Mit Hilfe eines einfachen Algorithmus durch Nachweis von vier Antigenen (p53, WT1, Napsin A und des Progesteronrezeptors) konnte laut einer kanadischen Studie 88,5 % der Fälle korrekt klassifiziert werden, unter Verwendung von 6 bzw. 8 Markern 91 % bzw. 93 % der Fälle [20].

1.1.2.2 Histologisches Grading bei Ovarialkarzinomen

Ein weiterer Parameter zur Prognoseabschätzung liefert das histologische Grading der Ovarialkarzinome [21]. Es liegen verschiedene Formen von Grading-Systemen vor. Das FIGO-Grading (G1-G3) berücksichtigt dabei einzig den soliden prozentualen Anteil des Tumors [22], das WHO-Grading (G1-G3) betrachtet allerdings sowohl die Tumorarchitektur als auch die zytologischen Eigenschaften [23]. Das universelle Grading-System nach Silverberg unterteilt in 3 Graden und ist fortschrittlicher als die beiden Letztgenannten, da es quantitativ die Architektur, den Grad der Kernpolymorphie und den Mitosegrad bewertet und daraus einen Summenscore bildet [21, 22]. Zurzeit liegt kein einheitliches Grading-System für alle histologischen Subtypen vor, denn die bisher etablierten Systeme weisen innerhalb der heterogenen Gruppe des Ovarialkarzinoms Unterschiede in der Anwendung auf. Deshalb wurden für die verschiedenen histologischen Unterklassen jeweils Empfehlungen für das Grading publiziert [22].

Für das seröse Ovarialkarzinom hat sich hierbei statt der bisher genannten dreistufigen Einteilungen ein binäres Grading-System durchgesetzt, in Anlehnung zur Einteilung nach Malpica et al. [24]. Unterteilt werden Low-grade-seröse Karzinome (LGSC) und High-grade-seröse Karzinome (HGSC), die sich in Pathogenese, molekulargenetischen Eigenschaften, Therapie und Prognose unterscheiden [25] (S. 187). Primärkriterium zur Differenzierung zwischen HGSC und LGSC ist der Kernatypiegrad, Sekundärkriterium die Mitosezahl [26]. Nach Malpica et al. ist G1 nach Silverberg dem LGSC zuzuordnen und G3 nach Silverberg dem HGSC.

In einer Untersuchung von 11 Ovarialkarzinomen mit einem G2 nach Silverberg konnte gezeigt werden, dass alle Fälle mit einer schlechten Prognose verbunden waren, sowie molekulargenetische Eigenschaften eines HGSC aufwiesen [27]. Aus diesem Grund sollte ein G2 ebenfalls dem HGSC zugeteilt werden [22].

Die endometrioiden Ovarialkarzinome sollen nach Empfehlung durch das FIGO Grading 1-3 graduiert werden. Klarzellige Ovarialkarzinome benötigen keine weitere Graduierung, da diese Gruppe definitionsgemäß G3 angehören. Für maligne Brenner- und muzinöse Tumoren werden derzeit keine Graduierungen empfohlen und undifferenzierte Karzinome sind per se als high-grade einzustufen [22].

1.1.2.3 TNM- und FIGO-Klassifikation

Die aktuelle TNM- und FIGO-Klassifikation gilt sowohl für Ovarialkarzinome, als auch für Tubenkarzinome, primäre Peritonealkarzinome, nicht-epitheliale Ovarialtumoren und Borderline-Tumoren. Empfohlen wird dabei die Angabe des TNM-Stadiums, da die TNM-Klassifikation nur teilweise in die FIGO-Klassifikation übersetzbar ist. Tabelle 4 gibt eine aktuelle Darstellung von TNM- und korrespondierendem FIGO-Stadium wieder [28] (S. 67–68).

Tabelle 4: TNM- und FIGO-Klassifikation für Ovarial-/Tuben-/und Peritonealkarzinome [28].

TNM-Stadium	FIGO-Stadium	Definition
TX		Primärtumor nicht bekannt
T0		Kein Anhalt für einen Tumor
T1	I	Tumor auf die Ovarian oder Tuben beschränkt
T1a	IA	auf ein Ovar (Kapsel intakt) / eine Tube (Serosa intakt) beschränkt, negative Spülzytologie
T1b	IB	Befall beider Ovarien (Kapsel intakt) / beider Tuben (Serosa intakt), negative Spülzytologie
T1c	IC	Tumor befällt ein oder beide Ovarien oder Tuben mit Nachweis einer der folgenden Punkte:
T1c1	IC1	iatrogene Kapsel- (Serosa-)ruptur
T1c2	IC2	präoperative Kapsel- (Serosa-)ruptur oder Tumor auf Oberfläche

Tabelle 4 (Fortsetzung): TNM- und FIGO-Klassifikation für Ovarial-/Tuben-/und Peritonealkarzinome [28].

TNM- Stadium	FIGO- Stadium	Definition
T1c3	IC3	maligne Zellen im Ascites oder in der Spülzytologie nachweisbar
T2	II	Tumor befällt ein oder beide Ovarien/ Tuben mit zytologisch oder histologisch nachgewiesener Ausbreitung in das kleine Becken oder primäres Peritonealkarzinom
T2a	IIA	Ausbreitung auf Uterus und/oder Tuben und/oder Ovarien
T2b	IIB	Infiltration extragenitaler Organe des kleinen Beckens
T3 u./o. N1	III	Tumor befällt ein oder beide Ovarien/ Tuben oder primäres Peritonealkarzinom mit zytologisch oder histologisch nachgewiesener Ausbreitung außerhalb des kleinen Beckens und/oder retroperitoneale Lymphknotenmetastasen
T3		Nur retroperitoneale Lymphknotenmetastasen
N1a	IIIA1i	Metastasen ≤ 10 mm
N1b	IIIAii	Metastasen > 10 mm
T3a jedes N	IIIA2	mikroskopische extrapelvine Ausbreitung auf das Peritoneum außerhalb des kleinen Beckens mit oder ohne retroperitoneale Lymphknotenmetastasen
T3b jedes N	IIIB	makroskopische extrapelvine Ausbreitung auf das Peritoneum außerhalb des kleinen Beckens ≤ 2 cm mit oder ohne retroperitoneale Lymphknotenmetastasen
T3c jedes N	IIIC	makroskopische extrapelvine Ausbreitung auf das Peritoneum außerhalb des kleinen Beckens > 2 cm mit oder ohne retroperitoneale Lymphknotenmetastasen
M1	IV	Fernmetastasen mit Ausnahme peritonealer Metastasen
M1a	IVA	Fernmetastasen (exklusive Peritonealmetastasen)
M1b	IVB	Parenchymale Metastasen der Leber und/oder der Milz, Metastasen in außerhalb des Abdomens gelegenen Organen

1.1.2.4 Histogenese und dualistische Einteilung epithelialer Ovarialkarzinome

Lange Zeit wurde davon ausgegangen das Oberflächenepithel des Ovars sei Ursprung für die Entwicklung der epithelialen Ovarialkarzinome. In den letzten Jahren zeigte sich aus intensiver Forschung, dass der Ursprung oft extraovarieller Natur ist. So postulierten Kurman et al., dass HGSCs von der Tube entspringen sollen und sekundär das Ovar befallen [29]. Als Vorläuferläsion des HGSC wird das seröse tubare intraepitheliale Karzinom (STIC) angenommen und wurde erstmals bei Frauen entdeckt die eine bilaterale prophylaktische Salpingo-Oophorektomie erhalten haben. Sie zeigen sich quasi nur bei BRCA1/2-Mutation und weisen dieselbe TP53-Mutation auf wie HGSCs, welches die Rolle als Vorläuferläsion weiter bestätigt [30]. Für epitheliale Ovarialkarzinome wird aktuell von einem dualistischen Modell ausgegangen:

- 1) Typ 1-Tumoren (25 %): Hierzu zählen LGSC, endometrioiden, klarzellige, muzinöse, seromuzinöse Karzinome und maligne Brenner-Tumoren. Sie zeichnen sich durch einen langsam progredienten Verlauf, einer relativ guten Prognose, und „low-grade“ Charakter aus (mit Ausnahme der klarzelligen Karzinome, die per definitionem G3 sind). Sie machen 10 % der Mortalität von Ovarialkarzinomen aus.
- 2) Typ 2-Tumoren (75 %): HGSC und undifferenzierte Karzinome werden dieser Gruppe zugeordnet und erscheinen klinisch als höchst aggressiv wachsende Karzinome mit schlechter Prognose. Genetische Instabilität, TP53-, und BRCA1/2-Mutationen gehören zu den genetischen Kennzeichen [30].

Hier muss hinzugefügt werden, dass die Einteilung in Typ I - bzw. II - Tumoren am besten auf das seröse Ovarialkarzinom zutrifft, für LGSC bzw. HGSC. Gerade bei der Gruppe der Typ I Tumoren wird kritisiert, dass diese in vielen Aspekten nicht homogen ist, sei es histologisch, molekulargenetisch oder prognostisch [31].

Weiterhin sollen ein Teil der endometrioiden und klarzelligen Ovarialkarzinome mit Endometriose assoziiert sein [30], muzinöse Karzinome entstehen oft auf dem Boden eines benignen Zystadenoms mit Übergang in einen muzinösen Borderline-Tumor und schließlich zum invasiven Karzinom [23].

1.1.2.5 Morphologische und Molekulargenetische Eigenschaften von Ovarialkarzinomen

High-grade-seröse Karzinome (HGSC)

Die serösen Ovarialkarzinome machen etwa 70 % der epithelialen Ovarialkarzinome aus. Makroskopisch liegt beim HGSC ein solides Gebilde mit oder ohne zystische Anteile vor mit Nekrosen, Blutungen und abgelösten Tumorfragmenten. In 40-60 % tritt der Tumor bilateral auf. Mikroskopisch zeigt sich eine unregelmäßig angeordnete papilläre, adenoide oder kribriorme Zellanordnung, Kernpleomorphie und Mitoseatypien. In 30 % finden sich Psammomkörperchen [18]. Molekulargenetisch finden sich in >96 % TP53-Mutationen [32], Amplifikationen von CCNE1 werden ebenfalls häufig beobachtet [30]. Nach einer Analyse von Mafficini et al. sind 28% der HGSC mit BRCA1/2-Mutationen assoziiert, welches für die therapeutische Verwendung von PARP-Inhibitoren von großer Bedeutung ist [33].

Low-grade-seröse Karzinome (LGSC)

Histologisch zeigt sich ein meist ein Bild mit Mikropapillen, welche von freiem Raum umgeben sind. Es liegen weniger Kernpleomorphien vor und die Zahl der Mitosen ist geringer als bei HGSC [34]. Bei >60 % der Fälle finden sich aktivierende Mutationen der Onkogene ERB2, KRAS und BRAF, welches den MAPK-Signalweg aktivieren und so unter anderem zur Zellproliferation beitragen [30, 35]. Diese Mutationen scheinen sich schrittweise zu akkumulieren im Rahmen einer Entwicklung eines benignen Zystadenoms zum Borderline-Tumor und schließlich zum LGSC in Analogie zur Adenom-Karzinom-Sequenz beim kolorektalen Karzinom [25] (S. 187–188). Die Platinsensitivität ist bei LGSC schlechter, die Prognose jedoch besser als bei HGSC [30].

Endometrioid und klarzellige Karzinome (EC und CCC)

EC und CCC machen jeweils etwa 10 % der epithelialen Ovarialkarzinome aus, sind beide mit Endometriose assoziiert und wachsen meist unilateral. Beide werden oft in frühen FIGO-Stadien diagnostiziert, welches mit einer besseren Prognose einhergeht. ECs sind in 20 % mit einem Endometriumkarzinom vergesellschaftet. Am häufigsten sind ECs mit aktivierenden Mutationen des CTNNB1-Gens und inaktivierende Mutationen des PTEN-Gens assoziiert. Typische Alterationen der CCCs sind Mutation von ARID1A, PIK3CA und PTEN [25] (S. 190), [30], [34].

Muzinöse Karzinome (MC)

Sie machen 5 % der epithelialen Karzinome aus und liegen häufig gemeinsam mit benignen Zysten und Borderline-Tumoren vor. Unterschieden werden der mit >90 % häufigere intestinale Typ und endozervikale Typ. Eine wichtige Differentialdiagnose sind Metastasen mit anderem Primum. Deshalb wird die tatsächliche Zahl der ungewöhnlichen MC noch niedriger geschätzt [34, 36, 37]. In 65 % der Fälle finden sich aktivierende KRAS-Mutationen [38], daneben wurden in 21 % Mutationen in RNF43 berichtet [39]. Interessanterweise finden sich in etwa 50 % Mutationen der für Typ 1-Tumoren untypischen TP53-Mutationen [38].

In Abbildung 1 (a-d) sind beispielhaft ausgewählte histologische Schnitte der Subtypen in HE-Färbung dargestellt.

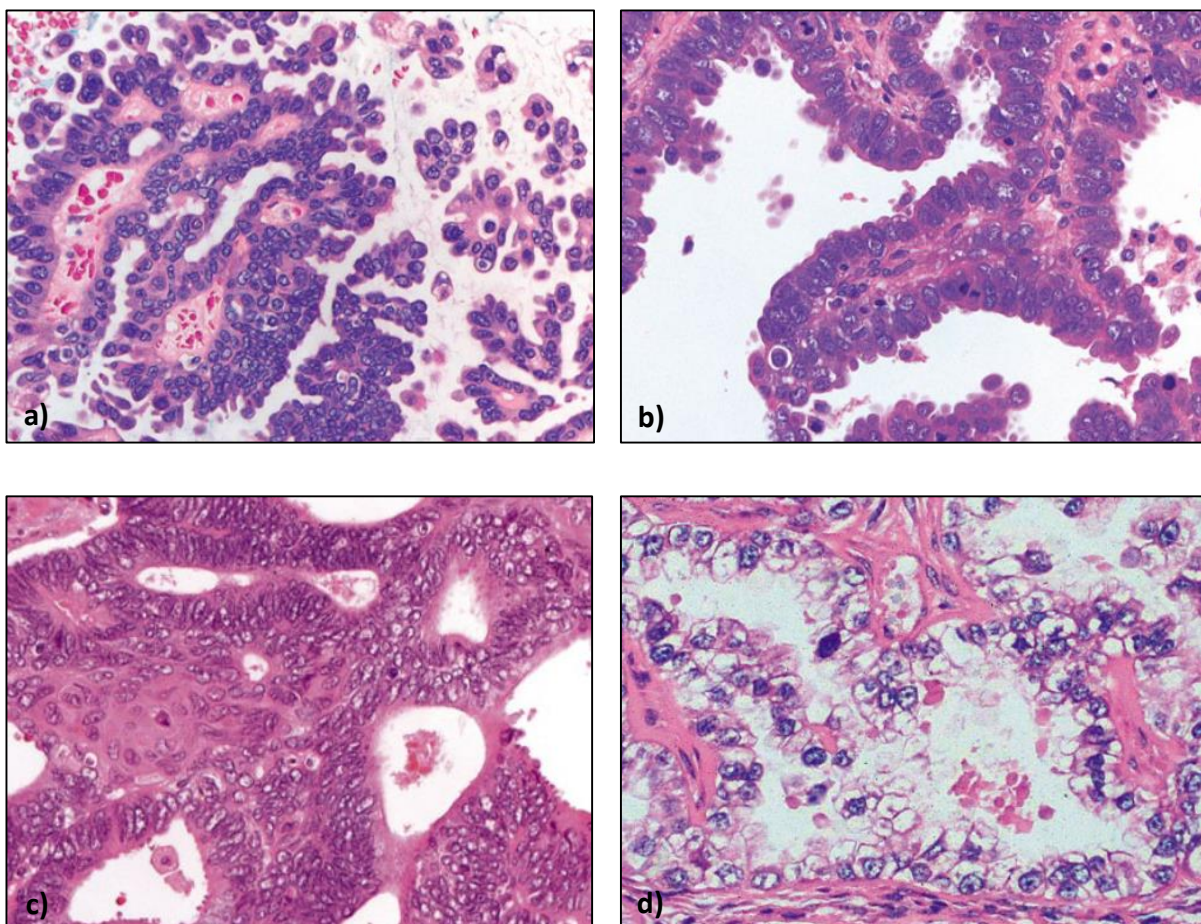


Abbildung 1: Exemplarische histologische Schnitte ausgewählter Subtypen des epithelialen Ovarialkarzinoms in HE-Färbung (modifiziert nach [18] (S.456-466)) a) Low-grade seröses Ovarialkarzinom (LGSC) mit papillärer Architektur, b) High-grade seröses Ovarialkarzinom (HGSC) mit unregelmäßiger Papillenbildung, c) Endometrioides Ovarialkarzinom mit tubulärem Wachstumsmuster, d) Klarzelliges Ovarialkarzinom.

1.1.3 Klinisches Management

1.1.3.1 Screening

Ein generelles Screeninginstrument mit dem eine wirkungsvolle Früherkennung möglich wäre existiert zurzeit nicht. Ein Screening mit Bestimmung der CA 125 Konzentration in Kombination mit einer transvaginalen Sonografie konnte Studien zu Folge keine signifikante Reduktion der Mortalität bewirken [40, 41].

1.1.3.2 Klinische Symptomatik

Aufgrund der relativ freien Beweglichkeit der Ovarien im kleinen Becken rufen frühe Veränderungen im Regelfall keine Symptome hervor. Dieser fatale Punkt führt zu einer Weiterentwicklung des heranwachsenden Karzinoms mit dem Ergebnis, dass ca. 75 % der Ovarialkarzinome im späten FIGO-Stadium III/IV diagnostiziert werden [1]. In diesen Spätstadien äußert sich der Tumor dann zum einen in Form von abdominellen Beschwerden mit Übelkeit, Völlegefühl, Stuhlnregelmäßigkeiten, Meteorismus und Zunahme des Bauchumfangs durch Aszites. Des Weiteren kann es zu einer Zunahme der Miktionsfrequenz kommen, sowie zu Dyspnoe, Tumorkachexie und selten auch zu Menstruationsbeschwerden [42]. Typische Metastasierungswege sind lymphogen und per continuitatem.

1.1.3.3 Präoperative Diagnostik

Bei Verdacht eines Ovarialkarzinoms wird präoperativ klinisch untersucht durch vaginale/rektale Tastuntersuchung, transvaginale Ultraschalluntersuchung und eventuell CT/MRT/PET bei speziellen Fragestellungen [43] (S. 636–637). Die Tumormarker CA 125 für seröse Karzinome und CA 19-9 für muzinöse Karzinome eignen sich als Verlaufsparemeter. CA 125 in Kombination mit HE4 und dem ROMA-Index können die Abgrenzung zu einem benignen Ovarialtumor verbessern [44]. Es gibt derzeit keine apparative Diagnostik die ein operatives Staging ersetzen könnte [45]. Deshalb ist bei Verdacht auf ein Ovarialkarzinom eine intraoperative Malignitätsabklärung erforderlich.

1.1.3.4 Therapie

Die Therapie erfolgt operativ, wobei der intraoperative Tumorschnellschnitt Grundlage für das Ausmaß der operativen Behandlung darstellt. Bei frühen Stadien (FIGO I-IIA) von Ovarialkarzinomen gehört zu einer optimalen Staging-Operation: eine Längsschnittlaparotomie, Inspektion und Palpation der gesamten Abdominalhöhle, Peritonealzytologie, Biopsien aus

allen auffälligen Stellen, Peritonealbiopsien aus unauffälligen Regionen, Adnexextirpation beidseits, Hysterektomie, ggf. extraperitoneales Vorgehen, Omentektomie, Appendektomie bei Befall des Appendix und eine beidseitige pelvine und paraaortale Lymphonodektomie [28] (S. 71). Eine fertilitätserhaltende OP setzt einen unilateralen Tumor im FIGO I-Stadium voraus [28] (S. 74). Ziel bei fortgeschrittenen Stadien (FIGO IIB-IV) ist die optimale zytoreduktive (Debulking-)Operation, welches auch als R0-Resektion bezeichnet wird. Dabei ist eine systematische Lymphadenektomie bei klinisch unauffälligem Lymphknotenstatus nicht indiziert, Harter et al. konnten hierfür in einer randomisierten Studie kein längeres progressionsfreies Überleben und kein längeres Gesamtüberleben beobachten [46]. Eine adjuvante platinhaltige Chemotherapie ist in Kombination mit Paclitaxel die First-line-Therapie in allen Stadien, außer im FIGO-Stadium IA eines G1 Tumors, ab FIGO IIIB-V kann zusätzlich mit dem Anti-VEGF-Inhibitor Bevacizumab therapiert werden [28] (S. 83). Bei fortgeschrittenem Ovarialkarzinom mit gesichertem Nachweis einer BRCA1/2-Mutation verbessert eine Erhaltungstherapie mit PARP-Inhibitoren wie Olaparib das progressionsfreie Überleben [47].

1.1.3.5 Prognostische Faktoren

Zu den prognostischen Faktoren gehören Tumorstadium, postoperativer Tumorrest, das Alter, Allgemeinzustand, histologischer Subtyp, Grading, intraoperative Aszites-Menge und eine leitliniengerechte Therapie [28] (S. 57). Der Zusammenhang zwischen FIGO-Stadium und 5-Jahres-Überlebensrate ist in Tabelle 5 veranschaulicht.

Tabelle 5: 5-Jahres-Überlebensrate in Abhängigkeit des FIGO-Stadiums [48] (S. 108).

FIGO-Stadium	5-Jahres-Überlebensrate
I	80 – 90 %
II	30 – 70 %
III	ca. 25 %
IV	ca. 6 %

In einer Gemeinschaftsarbeit zwischen der AGO-OVAR und GINECO wurden die Gewichtungen der verschiedenen prognostischen Faktoren in 3 prospektiven randomisierten Studien mit über 3000 Patientinnen ermittelt. Dabei zeigte sich unter anderem, dass der wichtigste prognostische Faktor das postoperative Vorliegen eines Resttumors (R1-Situation) ist. Im

Median lebten die Patientinnen mit kompletter Entfernung des Tumors 5 Jahre länger als Patientinnen mit Resttumor [49]. Dies spiegelt die enorme Bedeutung einer radikalen R0-Resektion wider.

1.2 Eukaryotische Initiationsfaktoren

1.2.1 Eukaryotische Translation – Proteinbiosynthese

Translation bezeichnet den Prozess der Umwandlung von mRNA in ein fertiges Protein. Dabei wird, anders als bei der Transkription, die Stoffklasse der Nukleinsäuren in Aminosäuresequenzen übersetzt. Die Translation umfasst mechanistisch vier Schritte: Initiation, Elongation, Termination und Recycling. Mit Hilfe von eukaryotischen *in vitro* Systemen wie Säugetierzell- oder Hefezellsystemen, wurden mechanistische Schritte der Translation genauer verstanden [50]. Zu den Komponenten der Translation gehören die informationsenthaltende mRNA, die Ribosomen als Translationsmaschinerie und die Regulationsfaktoren, die wiederum über Signalkaskaden kontrolliert werden. Durch hochauflösende Kristallstrukturanalysen konnten genaue morphologische Eigenschaften dieser Komponenten analysiert werden, als Beispiel sei die Kristallstrukturanalyse von Ben-Shem et al. genannt, die Ribosomen von Hefezellen der *Saccharomyces cerevisiae* in einer Auflösung von 3,0 Å analysierten [51]. Andererseits wurden durch Einzelmolekülanalyse dynamische Aspekte der Regulation von Genexpression dargestellt [52].

1.2.2 Initiation der eukaryotischen Translation

Generierung des 43S-Präinitiationskomplexes

Der Initiationsprozess ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Translation und wird durch eukaryotische Initiationsfaktoren (eIFs) reguliert. Die Proteinbiosynthese findet im Zytoplasma statt, weshalb die Ribosomen, die im Nucleolus synthetisiert werden und aus rRNA und ribosomalen Proteinen bestehen, in das Zytoplasma transportiert werden müssen. Neuerdings wurde die alleinige Biosynthese von Proteinen im Zytoplasma bezweifelt, da von nukleärer Translation berichtet wurde [53]. Für die Initiation ist eine Dissoziation des 80S-Ribosoms in seine 40S- und 60S-Untereinheiten nötig. An diesem Prozess sind eIF1, -1a, -3, -6 und das ABCE1-Protein beteiligt [50, 54]. An der 40S-Untereinheit verbleiben eIF 1 an der E-Bindestelle und eIF 1A an der A-Bindestelle. EIF3 bindet ebenfalls die 40S-Untereinheit und

erleichtert die Bindung des ternären Komplexes um letztendlich den 43S-Präinitiationskomplex (PIC) zu bilden. Der ternäre Komplex besteht aus der Initiator-tRNA, die mit der Aminosäure Methionin beladen ist ($\text{tRNA}_i^{\text{Met}}$), eIF2 und GTP.

Bindung des 43S-Präinitiationskomplexes an die mRNA

Die 5'-cap-abhängige Bindung der mRNA an den 43S-PIC benötigt die eIFs3, -4F und 4B oder 4H. Der Multienzymkomplex eIF4F besteht aus dem cap-bindenden eIF4E, aus der RNA-Helicase eIF4A und dem Gerüstprotein eIF4G, welches wiederum eIF3, -4E, -4A und PABP bindet und in Position hält. EIF4B und 4H dienen als Stimulatoren der RNA-Helicase eIF4A. Durch die Bindung von eIF4E am 5'-cap der mRNA und PABP, das mit dem 3'-PolyA- Ende wechselwirkt, entsteht ein Ringschluss („closed loop“) [50]. Vor allem mRNA mit kurzer ORF (sORF) gehen einen Ringschluss ein an dem auch das Gerüstprotein RACK1 beteiligt ist [55]. Durch die Rekrutierung dieser Proteine hat sich aus dem 43S- ein 48S- PIC entwickelt.

Ribosomales Scanning

Das ribosomale Absuchen nach dem Startcodon ist mit zwei Prozessen verbunden. Zum einen werden ATP-abhängig sekundäre Strukturen im 5'-UTR durch eIF4A entwunden und zum anderen sucht der 48S-PIC die mRNA downstream der 5'cap nach dem Startcodon AUG ab. Dieses ist oft in der sog. Kozak-Sequenz lokalisiert: GCC(A/G)CCAUGG, mit einem Purin in -3 und einer Guanin-Base in +4 Position [56]. Nach Pestova et al. ist der 43S-PIC auch ohne eIF4F, -4B und ATP in der Lage die mRNA nach dem Startcodon abzuscannen, sofern eine unstrukturierte 5'-UTR vorliegt [57]. Bei diesem Prozess sind die eIF1 und eIF1A essentiell, die die P-Halbstelle des mRNA-Kanals bis zum Erscheinen des Startcodons offenhalten und versichern, dass es nicht zu einer falschen Basenpaarung mit der $\text{tRNA}_i^{\text{Met}}$ kommt. Sobald der PIC auf ein AUG-Codon trifft, wird der Scan arretiert und $\text{tRNA}_i^{\text{Met}}$ bindet fest an das AUG-Startcodon. Der eIF2-spezifische GTPase-Aktivator eIF5 bindet die β -Untereinheit von eIF2 und induziert so die GTPase-Aktivität ihrer γ -Untereinheit, sodass es zur Hydrolyse des im ternären Komplex gebundenen GTP zu GDP kommt [58]. Dadurch nimmt die Affinität von eIF2 zu $\text{tRNA}_i^{\text{Met}}$ ab und dissoziiert teilweise in GDP gebundener Form vom Komplex, um von eIF2B, welches als GEF (guanine nucleotide exchange factor) fungiert, recycelt zu werden [50].

Rekrutierung der 60S-Untereinheit

Die Rekrutierung der 60S-Untereinheit und Dissoziation von eIF1, -1A, -3 und verbleibendes eIF2•GDP wird durch die Ribosom-abhängige GTPase eIF5B vermittelt [50, 59]. Diese liegt im GTP-gebundenen Zustand vor. Bindet die 60S-Untereinheit an den 48S-PIC kommt es wiederum zur Hydrolyse des eIF5B•GTP zu eIF5B•GDP, welches dann vom Komplex dissoziiert. Die chemische Energie der Hydrolyse wird also für die Dissoziation von eIF5B vom Komplex verwendet. Ergebnis dieser Prozesse ist ein fertiger 80S-Initiationskomplex, in dem die mRNA enthalten ist und die tRNA₁^{Met} am AUG-Startcodon gebunden ist [50].

1.2.3 Regulation der eukaryotischen translatorischen Initiation

Die Initiation der eukaryotischen Translation wird im Großen und Ganzen über zwei Hauptmechanismen gesteuert:

- 1) Zum einen über die Regulation der eIFs wie z.B. durch Phosphorylierung
- 2) Zum anderen über Regulation der mRNA selbst, durch spezifisch bindende RNA-Bindeproteine oder miRNAs. Hierbei können bestimmte mRNAs spezifisch reguliert werden [50].

Modifikation der eukaryotischen Initiationsfaktoren

Bei der reversiblen oder irreversiblen Modifikation der eIFs im Rahmen der Steuerung der Translation spielen zwei Signaltransduktionswege eine wichtige Rolle: der Ras-Erk-Mnk- und der PI3K-mTOR-Signalweg [60]. Für eIF2 und eIF4 sind die Steuerungsmechanismen am besten verstanden.

Der GEF eIF2B kann durch GSK-3 phosphoryliert werden, welches zu einer Inhibition führt. Durch Wachstumsfaktoren und Insulin wird GSK-3 über Aktivierung der PI3K-Kaskade phosphoryliert und somit inhibiert, wodurch es zu einer Dephosphorylierung und Disinhibition von eIF2B kommt. Dies ist einer der Weisen wie Insulin die Proteinsynthese stimuliert [61]. EIF2 ist ein trimeres Protein und besteht aus einer α -, β - und γ -Untereinheit. Es sind insgesamt vier Kinasen bekannt, die die α -Untereinheit von eIF 2 phosphorylieren können. Die Kinasen sind in Tabelle 6 aufgelistet.

Tabelle 6: Auflistung der eIF2-inhibierenden Proteinkinasen [50].

Proteinkinasen	Aktivierung
HRI (Häm-regulierter Inhibitor)	Wird bei Häm-Mangel in Erythrozyten aktiviert
GCN2 (general aminoacid control)	Aktivierung bei Aminosäuremangel
PERK (pankreatische Kinase des ER)	Aktivierung bei ER-Stress durch fehlgefaltete Proteine
PKR (RNA-abhängige Proteinkinase)	Bei Anwesenheit dsRNA bei Virusbefall der Zelle

Phosphoryliertes eIF2 ist nicht mehr in der Lage von eIF2B zu dissoziieren, weshalb die Konzentration an eIF2 und damit die Translationsrate abnimmt. Es existieren jedoch auch mRNAs, deren Translation durch eIF2-Phosphorylierung zunimmt. Diese müssen mindestens zwei kurze uORF vor dem eigentlichen ORF besitzen [62]. Die Transkriptionsfaktoren ATF 4 und 5 sind dafür Beispiele, dessen Expression durch PERK stimuliert wird [63, 64].

Der eIF4F-Komplex ist ebenfalls Angriffsstelle für eine Regulation. Diese findet jedoch indirekt über das eIF4E-Bindeprotein (eIF4E-BP) statt. Im hypophosphorylierten Zustand des eIF4E-BP bindet es das 5'-cap-assoziierte eIF4E, wodurch die Translation blockiert wird. Durch Phosphorylierung des eIF4E-BP, welches hauptsächlich durch mTORc1 geschieht, kann sich eIF4E von dem Protein lösen und liegt somit frei für die Translation [65]. Mnk 1 und 2 können eIF4E direkt phosphorylieren, dies hat jedoch keinen Effekt auf das Zellwachstum [66]. Dagegen scheint erhöhte Phosphorylierung von eIF4E mit Tumorwachstum zusammenzuhängen [67]. Die regulatorische Schlüsselkinase mTORc1 kann über Phosphorylierung von S6K1 und S6K2 eIF4B [68] aktivieren, die wiederum die Helicaseaktivität von eIF4A verbessert. Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass mTORc1 über den PI3K-mTOR-Signalweg durch Aminosäuren, Wachstumsfaktoren und Insulin aktiviert wird und über eIF4E-BP/eIF4E und S6K/eIF4B zu einer erhöhten Translationsrate beiträgt [69] (S. 613).

Regulation auf Ebene der mRNA

Spezifische mRNA-bindende Proteine können über Bindung der 5'-UTR Region die Translation einer mRNA hemmen. Das Bindemotiv, auch 5'-TOP-motif genannt, muss dabei in der proximalen 5'-cap-Region liegen, um auf diese Weise die Bindung des 43S-PIC zu behindern. Dieser Mechanismus ist relativ selten, wird jedoch beispielsweise bei der Genexpression des Ferritin-Gens beobachtet, bei dem IRP-1 spezifisch mit der Ferritin-mRNA wechselwirkt und so hemmt [70]. Häufiger ist die Bindung von Proteinen an die 3'-UTR, wodurch es zu einem inhibitorischem „closed loop“ kommt [65].

Ein weiterer Weg der Repression der Genexpression ist der zytoplasmatische Abbau der fertigen mRNA. Zwei Mechanismen spielen dabei eine Rolle: 1) mRNA-Degradierung durch miRNAs [71] und 2) nonsense-mediated decay (NMD) [72]. MicroRNAs sind für das Gene-Silencing verantwortlich und spielen eine essentielle Rolle in der post-transkriptionalen Modifikation von mRNA [73]. Es handelt sich um nichtcodierende RNA mit einer Länge von 21-23 bp [74]. Diese binden mit Proteinen der Ago-Familie wie zum Beispiel AGO4 (bzw. eIF 2C 4) und GW182 spezifische komplementäre Bereiche in der 3'-UTR von mRNAs [50], wodurch es über den RISC-Komplex zunächst zur Hemmung der Translation kommt [75] und im nächsten Schritt zu einer Degradierung der mRNA [76]. Der NMD wird bei Vorliegen eines vorzeitigen Stopp-Codons aktiviert, das durch Mutation oder alternativem Spleißen entstanden sein kann. Fehlerhafte mRNA wird durch Proteine (UPF1-3) eliminiert [77]. Es wird angenommen, dass es zur Protektion gegen Tumorförderung dient. Die Hemmung des NMD ist in vivo mit Tumorzellwachstum verbunden [78].

1.2.4 Zusammenhang zwischen Translation und Karzinogenese

1.2.4.1 Einfluss der eIFs 4F und 4B

Wie bereits beschrieben, besteht der Multienzymbkomplex eIF4F aus den drei Untereinheiten eIF4A, -4E und 4G [50]. Die Prozesse, an dem eIF4F beteiligt ist sind geschwindigkeitsbestimmend. Die RNA-abhängige Helicase eIF4A ist der DEAD-box-Familie angehörig und wird durch eIF4B stark stimuliert [79].

Die 5'-cap-bindende Funktion von eIF4E ist von der Anwesenheit von eIF4E-BP abhängig. Von eIF4G existieren zwei Isoformen eIF4GI und 4GII, als Gerüstprotein (*scaffold protein*) bildet es eine Brücke zwischen mRNA und Ribosom [79]. Von den genannten eIFs sind nach aktuellem

Stand lediglich eIF4E und eIF4G bei der Karzinogenese als relevant beschrieben [80]. Dazu muss hinzugefügt werden, dass bei Melanomen, bei Magenkarzinomen und bei hepatozellulären Karzinomen Überexpression von eIF4A zu beobachten waren [81–83]. Eine verstärkte Hochregulierung für eIF4E wurde bei verschiedenen Krebsarten beschrieben. Hierzu zählen Mammakarzinome [84], Ovarialkarzinome [85], Kolonkarzinome [86], Kopf-Hals-Karzinome [87] und Non-Hodgkin-Lymphome [80, 88]. Ras-Aktivierung und Erhöhung der Transkriptionsrate durch c-myc scheinen unter anderem Mechanismen zu sein, die für die Überexpression von eIF4E bei Tumorgeschehen verantwortlich sind [86, 89].

Überexpression des Gerüstproteins eIF4G wurde in Nasopharyngealkarzinomen [90] und beim Plattenepithelkarzinom der Lunge berichtet [91]. Maligne Zelltransformation, Hemmung der Apoptose und Induktion der Angiogenese scheinen Mittel zu sein, wie eIF4G die Karzinogenese auslöst [80]. Des Weiteren sind eIF4-Proteine indirekte Zielstrukturen für Chemotherapeutika bei der Krebstherapie. Ein prominentes Beispiel ist Rapamycin, welches als mTORc1-Inhibitor die Phosphorylierung von S6K und eIF4E-BP blockiert. Dephosphoryliertes eIF4E-BP kann eIF4E binden, wodurch die Bildung des eIF4F-Komplexes gestört wird und damit auch für die Tumorgenese wichtige Translation von Proteinen [60].

1.2.4.2 Einfluss der eIFs 5 und 5B

Neben der großen biologischen Bedeutung von eIF5, spielt der Initiationsfaktor auch im Tumorgeschehen eine Rolle. EIF5 wird vom *EIF5A*-Gen kodiert und existiert in zwei Isoformen: eIF5A1 und eIF5A2 [92]. In Säugerzellen und allen menschlichen Gewebearten wird die Isoform eIF5A1 ubiquitär exprimiert. Dagegen wird eIF5A2 beim Menschen nur im Hoden- und Hirngewebe, sowie in bestimmten Krebszellen exprimiert [93]. Als einziges bekanntes Protein unterliegt eIF5A1/2 einer Hypusination, eine spezielle posttranslationale Modifikation [93], welches neuerdings als Ansatzpunkt für Krebstherapeutika verwendet wird [94]. N-terminal fungiert eIF5 als GAP und aktiviert dabei die Hydrolyse von GTP durch eIF2. Des Weiteren besitzt eIF5 eine unabhängige GDI-Funktion, wodurch es den Austausch von GDP mit GTP des eIF2 kontrolliert und somit das Recycling von eIF2 mitbestimmt [95]. Überexpression von eIF5A2 wurde in kolorektalen, hepatozellulären und ovariellen Karzinomen beobachtet [96–98]. Beim Ovarialkarzinom wurde von Yang et al. gezeigt, dass Überexpression von eIF5A2 ein unabhängiger Marker für eine verkürzte Überlebenszeit darstellt [96].

Die Ribosom-abhängige GTPase eIF5B ist entscheidend bei der Rekrutierung der 60S-Untereinheit im Rahmen der Bildung des Initiationskomplexes. Bis vor kurzem wurde keine Rolle von eIF5B in Karzinomen beschrieben. Jedoch haben Wang et al. (2016) eine Überexpression von eIF5B im hepatozellulärem Karzinom in Verbindung mit kürzerer DFS und kürzerem Gesamtüberleben aufgezeigt. ASAP-1 spielte dabei mechanistisch eine Rolle [99].

1.2.4.3 Rolle des eIF6

Im Gegensatz zu den anderen eukaryotischen Initiationsfaktoren vertritt eIF6 sowohl in der Translation, als auch in der Ribosombiogenese Funktionen [100]. Zum einen wirkt das Protein als Anti-Assoziationsfaktor der Ribosomen, indem es die große Untereinheit von Ribosomen bindet und so die Assoziation von 60S- und 40S-Untereinheit, damit auch die Translation, verhindert [101]. In der Translation wird dem eIF6 so eine geschwindigkeitsbestimmende Funktion zugeschrieben [102]. Zum anderen spielt es eine wichtige Rolle bei der Biogenese der 60S-Untereinheit von Ribosomen. Etwa 70 % des eIF6 sind im Zytoplasma lokalisiert, 30 % im Zellkern [100]. Im Zytoplasma interagiert eIF6 zudem mit RACK1, welches die Funktion eines Rezeptors für aktivierte PKC übernimmt und die translationshemmende Funktion von eIF6 aufheben kann. Sobald aktiviertes PKC RACK1 bindet kommt es zu gesteigerter Translationsrate in vitro und in vivo [103]. EIF6 ist darüber hinaus mit dem RISC assoziiert und nimmt auf diese Weise Einfluss auf die posttranskriptionale Stabilität von mRNA. In humanen Zelllinien wurde gezeigt, dass eine reduzierte Expression von eIF6 mit einer Repression von miRNA-vermittelter Genregulation zusammenhängt [104]. Diese gehören zu einer Klasse von nicht-codierender RNA, sind etwa 22 Nucleotide lang und bewirken eine posttranskriptionale Reduktion der Genexpression bestimmter mRNA-Edukte [105].

In vielen Tumorarten wurde eine Überexpression von eIF6 gezeigt, wie bei kolorektalen Karzinomen [106], Ovarialkarzinomen [105], bei Leukämie [107], Kopf-Hals-Karzinomen [108], Gallenblasenkarzinomen [109] und in Lungenmetastasen [92, 110].

1.3 Zielsetzung der Arbeit

Ausgehend von der Hypothese, dass eIFs wichtige Funktionen für die Biologie des Ovarialkarzinoms wahrnehmen, wurde in dieser Dissertation die Expression der eIF4A1, -4B, -4E, -4G, -5A1, -5A2, -5B und 6 in benignen und malignen Ovarialtumoren mittels Immunhistochemie analysiert und ein möglicher Zusammenhang mit entsprechenden klinisch-pathologischen Daten untersucht. Es wird evaluiert, ob einzelne oder alle untersuchten eIFs potenzielle Biomarker für das Ovarialkarzinom darstellen.

Im Detail werden folgende Aspekte untersucht:

- (1) Untersuchung der immunhistochemischen Expressionen der ausgewählten eIFs in verschiedenen Subtypen von Ovarialkarzinomen und benignen Ovarialtumoren
- (2) Ermittlung des Anteils an Überexpression in Ovarialkarzinomen und benignen Ovarialtumoren und Vergleich der beiden Gewebetypen hinsichtlich der Überexpression
- (3) Zusammenhang zwischen Überexpression der eIFs und klinisch-pathologischen Daten des Ovarialkarzinom-Kollektivs
- (4) Korrelation zwischen Überexpression der eIFs und Prognose der Patientinnen mit Ovarialkarzinomen (krankheitsfreies Überleben sowie Gesamtüberleben).

2 Material und Methoden

2.1 Materialien

2.1.1 Geräte

NexES Färbemodul	Ventana (Unterhaching, DE)
TMA-Gerät (MTA Booster OI)	Alphelys (Plaisir, FR)

2.1.2 Chemikalien

Balsam	I. Hecht
Diaminobenzidin	Ventana (Unterhaching, DE)
Ethanol (75%, 96%, 100%)	Lager Pathologie (OvGU Magdeburg, DE)
Hämalaun nach Mayer	Herstellung in Pathologie (Material von Merck,DE)
Inhibitor	Ventana (Unterhaching, DE)
COPPER Kupferlösung	Ventana (Unterhaching, DE)
Protease I	Ventana (Unterhaching, DE)
Streptavidin – Meerrettichperoxidase	Ventana (Unterhaching, DE)
Spülpuffer Tris	Ventana (Unterhaching, DE)
Xylol	Lager Pathologie (OvGU Magdeburg, DE)
Folgende Antikörper:	
Biotin Ig	Ventana (Unterhaching, DE)
Anti-eIFs	siehe Tabelle 7

Tabelle 7: Auflistung der verwendeten primären Antikörper

Antigen	Lagerung	Hersteller	Vorbehandlung	Verdünnung	Positivkontrolle
eIF4A1	-20°C	Cell Signaling	CC1 mild	1:100	Colon
eIF4B	-20°C	GeneTex	CC1 mild	1:500	Colon-CA
eIF4E	-20°C	Cell Signaling	CC1 stand.	1:100	Colon
eIF4G	-20°C	Cell Signaling	CC1 mild	1:50	Colon
eIF5A1	-20°C	Thermofisher	CC1 mild	1:250	Colon
eIF5A2	-20°C	abcam	CC1 mild	1:100	Colon-CA
	Glycerol				
eIF5B	-20°C	Thermofisher	CC1 mild	1:50	Colon
eIF6	+4°C	Biomol	CC1 mild	1:100	Colon-CA

2.1.3 Patientenkollektiv

Insgesamt wurden 154 Ovarialgewebeproben von Patientinnen retrospektiv untersucht, unter denen 101 Ovarialkarzinome, 34 benigne Zystadenome und 19 Normalovarien beinhaltet waren. Bei den Ovarialkarzinomen handelt es sich um Fälle, die zwischen 2001 und 2013 in der Universitätsfrauenklinik in Magdeburg behandelt wurden. Davon wurden 72 von den 101 Ovarialkarzinomen, sowie alle Zystadenome aus der Kohorte von Ignatov et al. verwendet [111]. Die restlichen 29 Fälle von Ovarialkarzinomen und alle Normalovarien wurden aus der Datenbank des Instituts für Pathologie der Universitätsklinik Magdeburg herausgesucht und aus dem Archiv gesammelt. Die ethische Vertretbarkeit dieser Arbeit wurde durch ein positives Ethikvotum der Ethikkommission der Universitätsklinik Magdeburg gegeben (Aktenzeichen: 81/19, Datum der Ausstellung: 24.06.2019).

Die histologische Verteilung der Subtypen des untersuchten Ovarialkarzinomkollektivs ist in Abbildung 2 gezeigt.

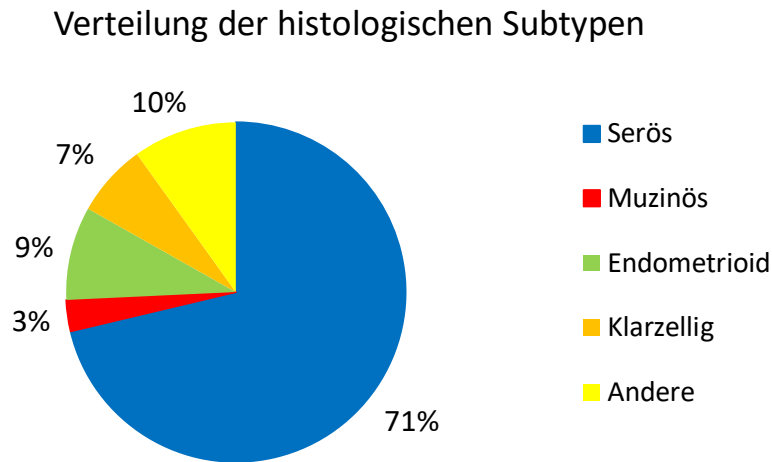


Abbildung 2: Verteilung der histologischen Subtypen (serös, muzinös, endometrioid, klarzellig und andere) der in dieser Arbeit untersuchten invasiven Ovarialkarzinome, dargestellt in einem Kreisdiagramm. Mit 71 % macht der seröse Subtyp den größten prozentualen Anteil der invasiven Ovarialkarzinome aus.

Die benignen Zystadenome und die Normalovarien wurden ebenfalls in der Universitätsfrauenklinik operiert und stammen aus den Jahren 2002 – 2010 bzw. 2008 – 2019. Bei den benignen Zystadenomen handelt es sich um seröse (64,7%) und um muzinöse (35,3%) Subtypen. Die Normalovarien wurden im Rahmen einer prophylaktischen Adnexektomie entnommen und wurden von einem Pathologen als tumorfrei beschrieben.

Das Alter der Patientinnen mit Ovarialkarzinomen lag bei Erstdiagnose zwischen 20 und 82 Jahren und waren im Mittel 61 Jahre halt. Abbildung 3 zeigt die Altersverteilung untersuchten Patientinnen.

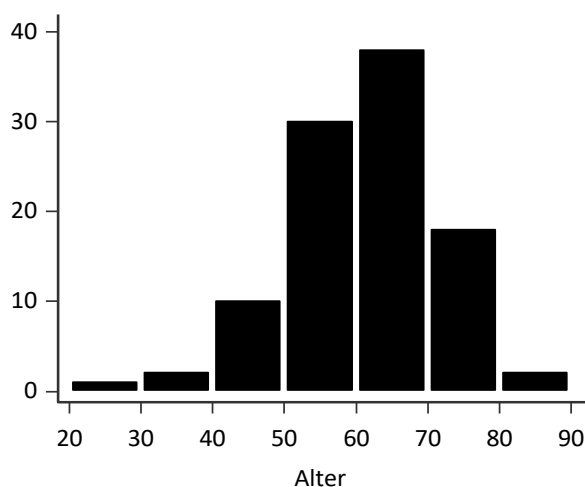


Abbildung 3: Altersverteilung aufgeteilt in 10-Jahresintervallen mit absoluten Häufigkeiten der in dieser Arbeit untersuchten Patientinnen mit invasivem Ovarialkarzinom. Der Häufigkeitsgipfel liegt zwischen 60 und 70 Jahren.

Einschlusskriterien der Untersuchung waren bestehende Follow-up-Daten von mindestens 12 Monaten, keine vorherigen Chemotherapien aufgrund von anderen Grunderkrankungen und histologisch durch einen Pathologen bestätigte Fälle. Ausschlusskriterien waren ein unvollständiges Follow-up, eine inkomplette Chemotherapie und nichtauswertbare TMA-Stanzen. Je nach eIF ergibt sich somit eine unterschiedlich geringere Fallzahl an Färbungen durch nicht auswertbare Stanzen.

2.1.4 Software zur statistischen Auswertung

Zur statistischen Auswertung wurden folgende Programme verwendet:

1. IBM SPSS Statistics Version 26 (Chicago, USA)
2. Microsoft Excel 2010 (Redmond, USA)
3. MedCalc Version 19.2 (Ostende, Belgien)

2.2 Methoden

2.2.1 Sammlung und histologische Vorbereitung der Patientenfälle

Aus dem elektronischen Register des Instituts für Pathologie der Universitätsklinik Magdeburg wurden 29 der 101 Fälle von Ovarialkarzinomen, sowie die Fälle von gesunden Ovarien ($n=19$) erfasst. Die Weiterverarbeitung der Daten erfolgte pseudonymisiert. Die histologischen Nummern wurden an das Archiv weitergeleitet, wo dann die in paraffineingebetteten Blöcke inklusive der HE-angefärbten Schnitte herausgesucht wurden. Auf den HE-Schnitten wurden von einem Pathologen die informativen Bereiche markiert.

2.2.2 Tissue micro array (TMA)

2.2.2.1 Grundlagen

Mit der Einführung des Tissue micro arrays (früher: multitumor tissue block) durch Battifora H. wurde ein Hochdurchsatzverfahren etabliert, welches die gleichzeitige molekulare Analyse von hunderten Gewebeproben erlaubt [112]. Kurz ausgedrückt werden Gewebestanzungen von verschiedenen Gewebeproben durch ein TMA-Gerät entnommen und in einen Empfängerblock übertragen. Durch Schneiden des Empfängerblocks mit Hilfe eines Mikrotoms sind pro Block bis zu 200-300 (4 μm dicke) Schnitte herstellbar. Diese werden entsprechend auf Objektträger übertragen [113]. Auf RNA-, DNA- und Protein-Ebene lässt sich eine große Anzahl von Gewebeproben gleichzeitig analysieren. So werden TMAs bei der mRNA In-situ-

Hybridisierung, bei der Fluoreszenz-In-situ-Hybridisierung (FISH) oder bei immunhistochemischen Verfahren angewendet. Die häufigste Anwendung der TMAs ist die Immunhistochemie bei der Erforschung von Biomarkern bei Tumorgeschehen. Vorteile des TMA sind zum einen eine sparsame Verwendung von Gewebematerial, das ggf. für weitere Diagnostik zur Verfügung steht. Zum anderen steigt die Reproduzierbarkeit der Analysen, da alle Gewebeproben eines TMA-Schnittes unter den gleichen Bedingungen bearbeitet werden. Da molekularbiologische Analysen sehr kostenintensiv sind, ist umso mehr auf eine sparsame Verwendung von Reagenzien zu achten. Dadurch, dass hunderte von Gewebeproben auf einem Objektträger analysiert werden, sinkt die Verwendung von biochemischen Reagenzien ungemein. Alles in allem ist die TMA-Technik also ein ressourcenschonendes und kosteneffizientes Verfahren für die Durchführung molekularer Analysen [114].

2.2.2.2 Produktion von Tissue micro arrays mit Ovarialgewebe

Herstellung der Tissue micro arrays (TMAs)

Zunächst wurden die verschiedenen in paraffineingebetteten Gewebeproben mit ihren korrespondierenden HE-gefärbten Schnitten herausgesucht. Die informativen Bereiche wurden für jede Probe auf dem Objektträger durch einen Pathologen markiert. Die Paraffinblöcke mit den verschiedenen eingebetteten Gewebeproben (=Spenderblöcke) wurden mittels eines TMA-Gerätes auf einen leeren Paraffinblock übertragen (=Empfängerblock). Im Detail wurde dabei eine 0,6 mm zylinderförmige Stanze aus dem Spenderblock auf eine passend vorgefertigte Stelle im Empfängerblock übertragen. Der Abstand zwischen zwei Stanzen betrug etwa 1 mm. Dies wurde für alle Spenderblöcke wiederholt. Ein Paraffinblock ist 18 mm lang und 30 mm breit. Etwa 5 mm Rand wurde bei allen TMAs freigelassen, um ein Abbrechen des Randes zu vermeiden. Die Anordnung der Stanzen im Empfängerblock erfolgte nach einem Schema mit X- und Y-Achse. Pro Empfängerblock gab es dabei 6-7 Zeilen und 13 Spalten, sodass theoretisch 78-91 Gewebestanden pro Empfängerblock möglich gewesen wären. Diese Zahl war jedoch bei allen Blöcken kleiner, da Stellen freigelassen wurden, um ein bestimmtes Muster zu erzeugen, das zur Orientierung bei der darauffolgenden Auswertung gedient hat. Abbildung 4 zeigt die Beschreibung eines TMA-Gerätes, sowie einen beispielhaften Empfängerblock.

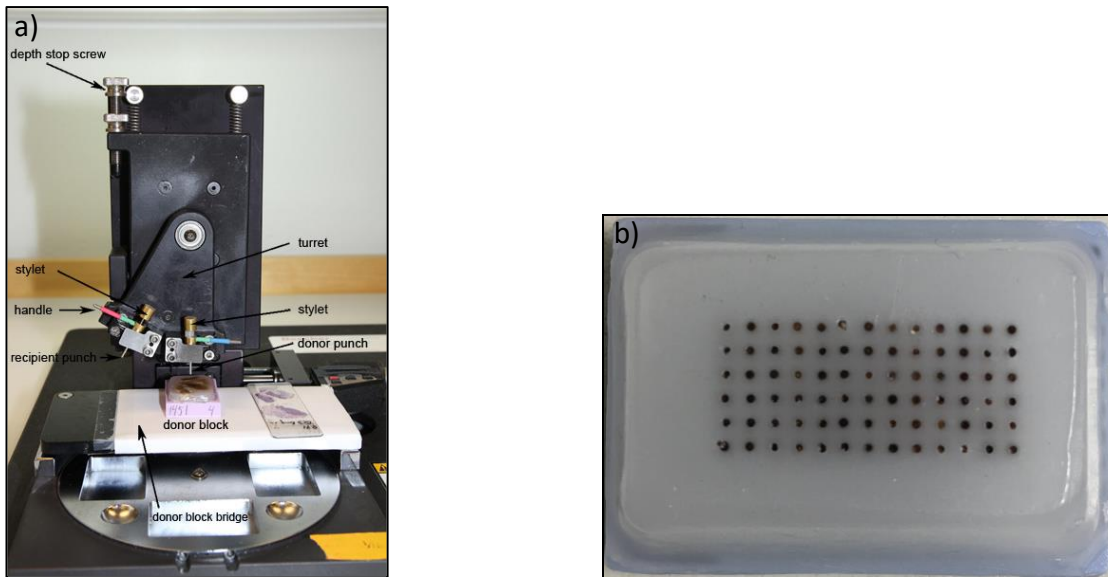


Abbildung 4: TMA-Herstellung:

a) Darstellung eines TMA-Gerätes (modifiziert nach [114]). Zu sehen ist der bewegliche Stanzturm mit Spender-Stanzstift (in rot) und Empfänger-Stanzstift (in blau) sowie ein Spenderblock mit dem zu untersuchenden Gewebe mit zugehörigem Objektträger.

b) Beispiel eines fertigen Empfängerblocks aus dem im nächsten Schritt TMA-Schnitte generiert werden können.

Schneiden und Auftragung der TMA-Blöcke auf Objektträger

Sind die Empfängerblöcke fertig gestanzt, so werden im nächsten Schritt TMA-Schnitte hergestellt. Hierfür müssen die Empfängerblöcke mit der Stanzoberfläche auf je einen Objektträger platziert werden und anschließend bei 40°C für etwa 40 min erwärmt werden. Danach wird die Stanzoberfläche weiter geglättet, indem manuell die Objektträger vorsichtig an die Stanzoberfläche der Empfängerblöcke gestrichen werden. Mit dem Objektträger nach unten gerichtet, werden die Empfängerblöcke für 10 min abgekühlt. Nach Entfernen der Objektträger ist die glatte Oberfläche der Empfängerblöcke erkennbar. Mit Hilfe eines Rotationsmikrotoms werden 4 µm-dicke Schnitte angefertigt. Die Schnitte werden dabei zunächst in ein aufgewärmtes Wasserbad überführt. In möglichst kurzer Zeit sollten diese dann auf Objektträger übertragen werden, um ein Schmelzen wichtiger Strukturen der Gewebeproben zu vermeiden. Die auf dem Objektträger befindlichen TMA-Schnitte werden schließlich über Nacht bei Raumtemperatur getrocknet und am Folgetag bei 50°C für etwa 12h erwärmt. Abbildung 5 zeigt die Prozedur von der Herstellung eines TMAs zum angefärbten TMA-Schnitt.

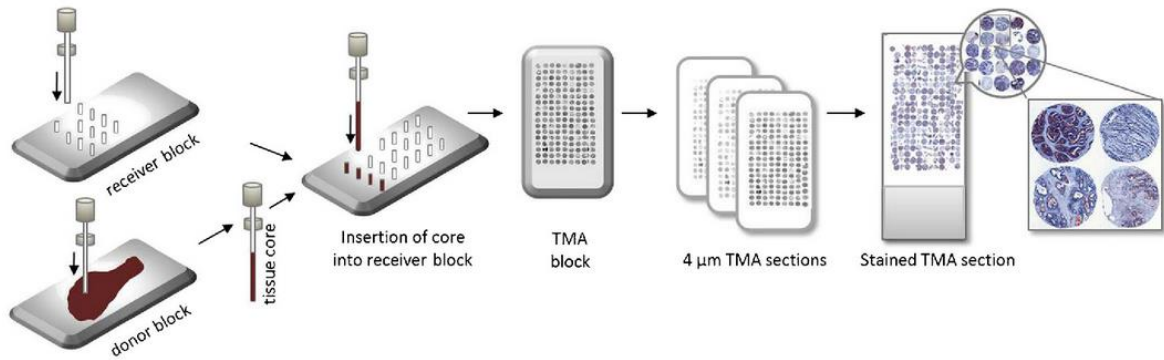


Abbildung 5: Schema der Erstellung eines gefärbten TMA-Schnitts (modifiziert nach [115]). Nachdem alle Gewebeproben in den Empfängerblock übertragen wurden, werden im nächsten Schritt durch ein Rotationsmikrotom 4 µm-dicke Schnitte angefertigt und anschließend immunhistochemisch gefärbt und analysiert.

Anzahl der Stanzten pro Gewebeprobe

Bei den Ovarialkarzinomen wurden für jede Gewebeprobe mindestens drei, meistens jedoch vier repräsentative Stanzten ausgewertet. Bei weniger als drei Stanzten, beispielsweise durch Verlust des Materials beim Schneiden oder beim Färben wurden die Fälle ausgeschlossen. Bei den benignen Zystadenomen wurden ebenfalls mindestens drei repräsentative Stanzten pro Fall verwendet. Für die Normalovarien wurden alle Fälle mit mindestens zwei Stanzten in die Auswertung aufgenommen, alle anderen wurden exkludiert.

Kontrollgewebe

Als Kontrollgewebe wurde das einschichtig flache bis kubische Oberflächenepithel von gesunden Ovarien verwendet. Die Ovarien wurden prophylaktisch im Rahmen einer genetischen Vorbelastung oder aufgrund eines Tumors an einem anderen weiblichen Genitalorgan in der Frauenuniversitätsklinik Magdeburg entnommen und von Pathologen als tumorfrei bestätigt. Des Weiteren wurde zum Vergleich benignes Tumorgewebe aus Ovarien untersucht.

2.2.2.3 Fehlerquellen

Bei der Produktion der TMAs muss darauf geachtet werden, dass ein entsprechender Rand bei den TMA-Blöcken freigelassen wird, damit es zum einen nicht zum Abbruch dieser kommt und zum anderen während des Schneidens kein Gewebe verloren geht [114]. Es sollte beachtet werden, dass die Blöcke vor dem Schneiden durch das Mikrotom nicht zu lange erwärmt

werden, da die Stenzen ansonsten zu sehr einschmelzen, kollabieren und somit ungeordnet vorliegen [114].

2.3 Immunohistochemische Färbung

2.3.1 Theorie der Immunohistochemie

Die Immunhistochemie (=IHC) basiert auf dem Prinzip der Antigen-Antikörper-Reaktion. Ziel ist die Erfassung von spezifischen Gewebezielstrukturen wie z.B. Oligosaccharidketten oder Aminosäuregruppen (=Epitop), welches für diagnostische oder experimentelle Untersuchungen mittlerweile unabdingbar geworden sind. Es wird direkte und indirekte IHC unterschieden. Bei der direkten IHC werden spezifisch mit einem Fluorochrom konjugierten Primärantikörper direkt auf das Untersuchungsgewebe aufgetragen. Hauptanwendung findet dieses Verfahren bei der Diagnostik von Nierenkrankheiten und Dermatosen [116] (S. 287). Die indirekte IHC beinhaltet einen wichtigen Zwischenschritt. Nachdem ein unkonjugierter Primärantikörper spezifisch nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip das Epitop gebunden hat, wird ein fluorochrom- oder enzymmarkierter Sekundärantikörper zugegeben, welches an die lange Kette (Fc-Fragment) des Primärantikörpers bindet und durch eine Färbereaktion ein Signal freisetzt. Das heutzutage gängigste Beispiel für eine indirekte Immunfluoreszenz ist die LAB-Methode, bei dem ein biotinylierter Sekundärantikörper an einen unkonjugierten Primärantikörper bindet und durch Zusatz von enzymkonjugiertem Streptavidin ein Streptavidin-Biotin-Komplex bildet. Das mit dem Streptavidin konjugierte Enzym ist in den allermeisten Fällen die Meerrettichperoxidase (HRP). Schließlich wird ein Chromogen wie DAB hinzugefügt, welches für die Färbereaktion verantwortlich ist. Biotin hat vier Bindungsstellen für Streptavidin, wodurch es zu einer Amplifikation des Farbsignals kommt. Um die histologische Morphologie besser zu visualisieren werden die Kerne mit Hämalaun gegengefärbt [116] (S. 270–295).

2.3.2 Immunohistochemische Färbung der Tissue micro arrays

In dieser Arbeit wurden insgesamt folgende acht eIFs immunhistochemisch untersucht: eIF4A1, eIF4B, eIF4E, eIF4G, eIF5A1, eIF5A2, eIF5B und eIF6. Die immunhistochemischen Färbungen wurden dabei standardisiert mit Hilfe eines Färbeautomaten (VENTANA BenchMark Ultra) im immunhistochemischen Labor des Instituts für Pathologie der Universitätsklinik Magdeburg hergestellt. Es wurde eine etablierte biotinfreie indirekte

Immunfärbung durchgeführt. Die Entparaffinierung der TMA-Schnitte erfolgte durch eine absteigende Xylol- und Alkoholreihe und anschließende Überführung in destilliertes Wasser. Die folgenden Schritte wurden im BenchMark Ultra-Färbeautomaten unter standardisierten Bedingungen durchgeführt. Zur Antigendemaskierung wurden die Schnitte durch die HIER-Methode mit CC1-Lösung vorbehandelt. Daraufhin wurden diese mit den eIF-Antikörpern (s. Tabelle 7) für 32 min. inkubiert. Zur Identifizierung der stattgefundenen Antigen-Antikörper-Reaktion wurde das ultraVIEW™ Universal DAB Detection-Kit verwendet, welches ein indirektes, biotinfreies System zum Nachweis von Maus-IgG, Maus-IgM und Kaninchen-Primärantikörpern darstellt. Inhalt dieses Kits sind HRP-markierte Sekundärantikörper, DAB, H₂O₂ und Puffersysteme. Auf diese Weise wird wie in Kap. 2.3.1 beschrieben eine Färbereaktion ausgelöst, bei dem der Sekundärantikörper den Primärantikörper bindet und das am Sekundärantikörper gebundene HRP aus H₂O₂ und DAB ein unlösliches braunes Präzipitat bildet. Zur Intensivierung der Färbereaktion wurde weiterhin Kupfer zugegeben. Die Kerne wurden mit Hämalun nach Meyer in blauer Farbe gegengefärbt, sodass das braune Präzipitat lichtmikroskopisch in histomorphologischem Kontext sichtbar geworden ist. Zur Entwässerung wurden die Objektträger mit aufsteigender Alkohol- und Xylol-Lösung behandelt. Als letztes wurde Kanada-Balsam aufgetragen und die Objektträger mit je einem Deckglas belegt. Als Positivkontrollen wurden die vom Hersteller angegebenen Gewebe verwendet (s. Tabelle 7).

2.4 Auswertungsschema der immunhistochemischen Färbungen

2.4.1 Scoring-System

Die mit den acht verschiedenen eIF-Antikörpern (s. Tabelle 7) immunhistochemisch gefärbten TMA-Schnitte wurden durch eine Pathologin (Dr. Susanne Sprung) aus dem Institut für Pathologie der Medizinischen Universität Innsbruck ausgewertet, die in der Forschung schwerpunktmäßig mit Ovarialkarzinomen arbeitet.

Zur Quantifizierung der eIF-Expression wurde ein etabliertes Scoring System verwendet in dem ein Staining-Index (SI) berechnet wurde, der sich aus der Multiplikation von Farbintensität und dem Anteil positiv gefärbter Zellen ergibt [96]. Dieser Index wurde sowohl für die zytoplasmatische als auch für die nukleäre Expression verwendet. Die Farbintensität wurde in vier Klassen eingeteilt: 0 (keine Färbung), 1 (schwache Färbung), 2 (moderate Färbung) und 3 (starke Färbung). Die Einteilung des prozentualen Anteils der gefärbten Zellen

wurde in fünf Klassen untergliedert: 0 (0% gefärbte Zellen), 1 (<10% gefärbte Zellen), 2 (11-50% gefärbte Zellen), 3 (51-80% gefärbte Zellen) und 4 (>80% gefärbte Zellen). Tabelle 8 zeigt eine zusammenfassende Darstellung der Erfassung des Staining- Index.

Tabelle 8: Schematische Darstellung der Erfassung des Staining-Index als Maß der eIF-Expression.

Farbintensität		Prozentualer Anteil an gefärbten Zellen		Staining-Index
0 (negativ)		0 (0%)		
1 (schwach)		1 (<10%)		
2 (moderat)	×	2 (11-50%)	=	0 bis 12
3 (stark)		3 (51-80%)		
		4 (>80%)		

Die Festlegung zwischen keiner/normaler Expression und Überexpression bei Ovarialkarzinomen wurde für sechs der acht eIFs individuell anhand eines Cut-off-Wertes des Staining-Index bestimmt. Hierzu wurde die Expression der eIFs des Kontrollgewebes (OSE der Normalovarien) herangezogen. Obwohl für nicht skalierte Daten eine Mittelwertbildung nicht möglich ist, wurden im Folgenden zur besseren Übersichtlichkeit arithmetische Mittelwerte der Staining-Indices sowohl im Kontroll- als auch im Tumorgewebe für entsprechend jedes der ausgewählten eIFs ermittelt. Die SI-Mittelwerte des Kontrollgewebes wurden folglich als Cut-off-Werte definiert. Bei eIF4E und eIF4G wurde in dieser Arbeit lediglich ein Vergleich zwischen benignen Zystadenomen und Ovarialkarzinomen unternommen.

2.4.2 Statistische Auswertung

Die statistischen Auswertungen wurden zum größten Teil durch IBM SPSS Statistics Version 26 (Chicago, USA) angefertigt. Darüber hinaus wurden die Programme Microsoft Excel 2010 (Redmond, USA) und MedCalc Version 19.2 (Ostende, Belgien) benutzt.

Der Vergleich der Mittelwerte der SIs, die sich aus den immunhistochemischen Auswertungen ergaben, wurde mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests zwischen den OC und benignen Zystadenomen für die ausgewählten eIFs analysiert. Für den Vergleich des Anteils an Überexpression der ausgewählten eIFs zwischen OC und benignen Zystadenomen wurde der Chi-Quadrat-Test nach Pearson verwendet. Dieser wurde ebenfalls bei der Auswertung der

Korrelation zwischen der eIF-Expression und den klinisch-pathologischen Eigenschaften der Ovarialkarzinome angewandt.

Für die Korrelation zwischen klinisch-pathologischen Daten der OC und krankheitsfreiem Überleben, der Korrelation zwischen eIF-Expression und Krankheitsfreiem Überleben und der Korrelation zwischen eIF-Expression und Gesamtüberleben wurden log-rank-Tests durchgeführt und diese über Kaplan-Meyer-Kurven grafisch veranschaulicht.

Tendenziell prognostische Faktoren sowie signifikant prognostische Faktoren wurden mit Hilfe einer univariaten Analyse aufgefunden. Eine prognostische Signifikanz wurde im nächsten Schritt durch eine multivariate Analyse durch Cox-Regression verifiziert. Als signifikant wurde $p < 0,05$ definiert. Eine statistische Tendenz wurde in dieser Arbeit für $p < 0,1$ festgelegt.

3 Ergebnisse

3.1 Klinisch-pathologische Daten des Patientenkollektivs

Insgesamt wurden 101 Fälle von Ovarialkarzinomen, die im Zeitraum zwischen 2001 und 2013 an der Frauenuniversitätsklinik Magdeburg behandelt worden sind, retrospektiv untersucht. Die folgenden klinisch-pathologischen Daten wurden aus dem elektronischen Datenregister des Instituts für Pathologie der Universitätsklinik Magdeburg sowie der Universitätsfrauenklinik Magdeburg recherchiert. Die Altersspannweite der Patientinnen lag zwischen 20 und 82 Jahren. Den größten Anteil machten dabei Patientinnen zwischen 60 und 69 Jahren aus (37,6%). Das durchschnittliche Alter lag bei 61 Jahren (s. Abb. 2). Der Großteil befand sich in einem postmenopausalen Zustand (86,1%), nur 14 Personen waren zum Diagnosezeitpunkt prämenopausal (13,9%). Ebenso wurden die meisten Fälle in einem späten Stadium diagnostiziert. Von den 101 Fällen wurden 53 (52,5%) im FIGO III-Stadium und 14 (13,9%) im FIGO IV-Stadium diagnostiziert, dagegen lediglich 21 (20,8%) im FIGO I-Stadium und 13 (13,9%) im FIGO II-Stadium. Bezüglich des Lymphknotenstatus konnten 46 (45,5%) Fälle ausgewertet werden, bei 55 (54,5%) wurde der pN-Status mit pNx verschlüsselt. Metastasen regionärer Lymphknoten konnten demnach bei 18 Patientinnen (17,8%) beobachtet werden, bei den restlichen 28 (27,7%) Fällen wurde vom Pathologen ein negativer Lymphknotenstatus angegeben. Die Verteilung der histologischen Subtypen lässt sich grafisch aus Abb.1 entnehmen. Mit 71,3 % der Fälle handelte es sich demnach um seröse Ovarialkarzinome, gefolgt von endometrioiden (8,9%), klarzelligen (6,9%) und muzinösen (3,0%) Ovarialkarzinomtypen. Bei den restlichen 13 Fällen (9,9%) handelte es sich Subtypen von transitionalzelligen oder undifferenzierten Karzinomen, bösartige Granulosazelltumoren, seröse Borderline Tumore und Müller-Mischtumoren. Parallel zu den fortgeschrittenen FIGO-Stadien lag bei der Mehrzahl der Fälle (64,4%) ein schlecht differenziertes histologisches Grading G3 vor. Eine G1- bzw. G2 -Differenzierung wurde bei 12 (11,9%) bzw. 24 (23,8%) Fällen beobachtet. In Hinsicht auf die Progression der Krankheit konnte bei 68,3% der Patientinnen im Verlauf ein Rezidiv diagnostiziert werden. In Tabelle 9 sind die klinisch-pathologischen Daten der Patientenkohorte mit Ovarialkarzinomen zusammengefasst.

Tabelle 9: Klinisch-pathologische Daten der Patientenkohorte mit Ovarialkarzinomen (n=101).

Charakteristikum	Anzahl (n)	Prozentualer Anteil (%)
Alter		
20-29 Jahre	1	1,0
30-39 Jahre	2	2,0
40-49 Jahre	10	9,9
50-59 Jahre	30	29,7
60-69 Jahre	38	37,6
70-79 Jahre	18	17,8
80-89 Jahre	2	2,0
Menopause		
Prämenopausal	14	13,9
Postmenopausal	87	86,1
FIGO-Stadium		
I	21	20,8
II	13	12,9
III	53	52,5
IV	14	13,9
Lymphknotenstatus		
Negativ	28	27,7
Positiv	18	17,8
Fehlt	55	54,5
Fernmetastasen		
Nein	9	8,9
Ja	14	13,9
Fehlt	78	77,2
Histologischer Subtyp		
Serös	72	71,3
Muzinös	3	3,0
Endometrioid	9	8,9
Klarzellig	7	6,9
Andere	10	9,9
Grading		
1	12	11,9
2	24	23,8
3	65	64,4
Rezidiv		
Nein	32	31,7
Ja	69	68,3

3.2 Expression der ausgewählten eIFs in Ovarialkarzinomen und Zystadenomen

Deskriptive Auswertung der immunhistochemischen Expression

Die immunhistochemisch gefärbten Präparate wurden durch das beschriebene Scoring-System durch eine erfahrene Pathologin ausgewertet (s. Kapitel 2.4.1). Bezüglich der Lokalisation der Anfärbung lässt sich sowohl für die OC als auch für die benignen Zystadenome sagen, dass alle untersuchten eIFs lediglich zytoplasmatische Färbungen aufwiesen bis auf eIF5B, bei der zytoplasmatische als auch nukleäre Färbungen beobachtet werden konnten. Aufgrund des Verlustes von Gewebespots oder schlechter Auswertbarkeit dieser, liegen für die jeweiligen eIFs verschiedene Gesamtfallzahlen (n) vor.

Bei den OC wurden für eIF4A1, -4B, -4E, -4G, -5A1 und 5A2 insgesamt überwiegend niedrige Staining-Indices festgestellt. So zeigte sich für eIF4A1 (n=90) in 75,6% der Fälle ein SI zwischen 0 bis 3, für eIF4B (n=88) entsprechend in 87,5% der Fälle, für eIF4E (n=79) in 98,7% der Fälle, für eIF4G (n=78) in 96,2% der Fälle, für eIF5A1 (n=94) in 87,2% der Fälle und für eIF5A2 (n=91) in 83,5% der Fälle. Bei eIF5B und 6 wurden vermehrt höhere SIs gefunden. In 39,4% der Fälle konnte bei eIF6 (n=96) ein SI zwischen 4 und 12 beobachtet werden. Bei eIF5B (n=88) zeigten 86,4% der Präparate einen entsprechenden SI sowohl zytoplasmatisch als auch nukleär. Somit zeigte eIF5B von allen untersuchten eIFs, der immunhistochemischen Färbung nach beurteilt, die höchste prozentuale Proteinexpression.

Bei den benignen Zystadenomen zeigte sich im Vergleich zu den OC ein ähnliches Muster, jedoch mit niedrigeren SIs. Auch hier zeigten eIF4B (n=27), -4E (n=17), -4G (n=27), -5A1 (n=33) und 5A2 (n=31) keine bis geringe Proteinexpression. Insgesamt lagen die SIs für die genannten eIFs in 100% der Fälle zwischen 0 und 3. Bei eIF4A1 (n=28) wurde in 75% der Fälle ein SI zwischen 0 und 3 erfasst, der Rest zeigte ein SI von 4 (17,6%) und ein Fall (2,9%) ein SI von 8. Wie bei den OC zeigten eIF5B und 6 im Vergleich zu den anderen eIFs, mit Ausnahme von eIF4A1, höhere SIs jedoch mit signifikant niedrigeren Werten im Vergleich zu den OC. Bei 90% der Präparate wurde für eIF6 (n=20) ein SI zwischen 0 und 3 erfasst, bei eIF5B (n=34) lediglich in 61,8% der Fälle. Auch bei den benignen Zystadenomen zeigte eIF5B unter den untersuchten eIFs die höchste Proteinexpression. In Tabelle 10 und 11 sind für die OC bzw. benignen Zystadenome die Intensitäten, die prozentuale Verteilungen und SI für alle eIFs tabellarisch aufgelistet. Zudem zeigt Tabelle 12 eine Auflistung aller Mittelwerte der SIs mit Standardabweichung für die ausgewählten eIFs.

Tabelle 10: Semiquantitative Darstellung des immunohistochemischen Expressionsverhaltens von Ovarialkarzinomen.

	eIF4A1		eIF4B		eIF4E		eIF4G		eIF5A1		eIF5A2		eIF5B (Cyt.)		eIF5B (Nukl.)		eIF6	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Total	90		88		79		78		94		91		88		88		96	
Intensität																		
negativ	40	44,4	48	54,5	73	92,6	60	76,9	59	62,8	54	59,3	6	6,8	6	6,8	22	22,9
schwach	28	31,1	31	35,2	6	7,4	16	20,5	30	31,9	30	33,0	21	23,9	14	15,9	59	61,5
moderat	18	20,0	9	10,2	0	0,0	2	2,6	5	5,3	6	6,6	37	42,0	32	36,4	14	14,6
stark	4	4,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	1,1	24	27,3	36	40,9	1	1,0
Prozentuale Verteilung																		
0	34	37,8	41	46,6	62	78,5	60	76,9	49	52,1	44	48,4	4	4,5	4	4,5	9	9,4
<10%	8	8,9	8	9,1	11	13,9	5	6,4	12	12,8	12	13,2	0	0,0	6	6,8	17	17,7
11-50%	30	33,3	23	26,1	4	5,1	8	10,3	18	19,1	14	15,4	5	5,7	2	2,3	21	21,9
51-80%	7	7,8	10	11,4	1	1,3	4	5,1	5	5,3	11	12,1	8	9,1	11	12,5	13	13,5
>80%	11	12,2	6	6,8	1	1,3	1	1,3	10	10,6	10	11,0	71	80,7	65	73,9	36	37,5
Staining Index																		
0	40	44,4	48	54,5	73	92,4	60	76,9	59	62,8	54	59,3	6	6,8	6	6,8	22	22,9
1	3	3,3	2	2,3	0	0,0	5	6,4	3	3,2	3	3,3	3	3,4	4	4,5	4	4,2
2	21	23,3	22	25,0	4	5,1	8	10,3	17	18,1	13	14,3	0	0,0	1	1,1	20	20,8
3	4	4,4	5	5,7	1	1,3	2	2,6	3	3,2	6	6,6	3	3,4	5	5,7	12	12,5
4	8	8,9	3	3,4	1	1,3	1	1,3	7	7,4	8	8,8	15	17,0	5	5,7	24	25,0
6	3	3,3	4	4,5	0	0,0	2	2,6	2	2,1	5	5,5	5	5,7	6	6,8	1	1,0
8	7	7,8	4	4,5	0	0,0	0	0,0	3	3,2	1	1,1	32	36,4	25	28,4	12	12,5
12	4	4,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	1,1	24	27,3	36	40,9	1	1,0

Tabelle 11: Semiquantitative Darstellung des immunohistochemischen Expressionsverhaltens von benignen Zystadenomen.

	eIF4A1		eIF4B		eIF4E		eIF4G		eIF5A1		eIF5A2		eIF5B (Cyt.)		eIF5B (Nukl.)		eIF6	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Total	28		27		17		27		33		31		34		34		20	
Intensität																		
negativ	18	64,3	27	100,0	17	100,0	23	85,2	33	100,0	29	93,5	19	55,9	19	55,9	14	70,0
schwach	9	32,1	0	0,0	0	0,0	4	14,8	0	0,0	2	6,5	9	26,5	9	26,5	5	25,0
moderat	1	3,6	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	5	14,7	5	14,7	1	5,0
stark	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	2,9	1	2,9	0	0,0
Prozentuale Verteilung																		
0	18	64,3	27	100,0	17	100,0	23	85,2	33	100,0	29	93,5	19	55,9	19	55,9	14	70,0
<10%	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
11-50%	1	3,6	0	0,0	0	0,0	1	3,7	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	15,0
51-80%	2	7,1	0	0,0	0	0,0	3	11,1	0	0,0	2	6,5	3	8,8	3	8,8	2	10,0
>80%	7	25,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	12	35,3	12	35,3	1	5,0
Staining Index																		
0	18	64,3	27	100,0	17	100,0	23	85,2	33	100,0	29	93,5	19	55,9	19	55,9	14	70,0
1	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
2	1	3,6	0	0,0	0	0,0	1	3,7	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	15,0
3	2	7,1	0	0,0	0	0,0	3	11,1	0	0,0	2	6,5	2	5,9	2	5,9	1	5,0
4	6	21,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	7	20,6	7	20,6	1	5,0
6	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	2,9	1	2,9	1	5,0
8	1	3,6	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	4	11,8	4	11,8	0	0,0
12	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	2,9	1	2,9	0	0,0

Tabelle 12: Mittelwerte der Staining-Indices der ausgewählten eIFs in Ovarialkarzinomen und benignen Zystadenomen mit Standardabweichung zur Veranschaulichung der Proteinexpression.

		eIF4A1	eIF4B	eIF4E	eIF4G	eIF5A1	eIF5A2	eIF5B	eIF6
OC	Anzahl (n)	90	88	79	78	94	91	88	96
	Fehlend	11	13	22	23	7	10	13	5
	Mittelwert \bar{x} (SI)	2,34	1,47	0,19	0,55	1,17	1,42	7,34	3,02
	STD σ (SI)	3,16	2,13	0,70	1,25	1,93	2,22	3,73	2,61
Zystadenome	Anzahl (n)	28	27	17	27	33	31	34	20
	Fehlend	6	7	17	7	1	3	0	14
	Mittelwert \bar{x} (SI)	1,43	0,00	0,00	0,41	0,00	0,19	2,47	0,95
	STD σ (SI)	2,15	0,00	0,00	1,01	0,00	0,75	3,30	1,70

Vergleich der SI-Mittelwerte zwischen OC und benignen Zystadenomen

Die einzelnen \bar{x} (SI)-Werte der eIFs in OC- und benignem Zystadenomgewebe sind in Tabelle 12 aufgeführt. Mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests wurden in einer statistischen Analyse die Verteilung der SI-Werte der ausgewählten eIFs der OC einerseits und der benignen Zystadenome andererseits untersucht. Im Rahmen dessen konnte für eIF4B, -5A1, -5A2, -5B und 6 ein höherer \bar{x} (SI) bei den OC beobachtet werden als bei den benignen Zystadenomen. Für eIF4B wurde bei Ovarialkarzinomen mit einem \bar{x} (SI)= 1,47±2,13 ein höherer durchschnittlicher SI beobachtet als bei benignen Zystadenomen mit \bar{x} (SI)= 0,0 (p<0,001). Bei eIF5A1 lag bei Ovarialkarzinomen im Vergleich zu den Zystadenomen mit \bar{x} (SI)= 1,17±1,93 zu \bar{x} (SI)= 0,0 (p<0,001), bei eIF5A2 mit \bar{x} (SI)= 1,42±2,22 zu \bar{x} (SI)= 0,19±0,75 (p<0,001), bei eIF5B mit \bar{x} (SI)= 7,34±3,73 zu \bar{x} (SI)= 2,47±3,30 (p<0,001) und bei eIF6 mit \bar{x} (SI)= 3,02±2,61 zu \bar{x} (SI)= 0,95±1,70 (p<0,001) ein signifikant höherer durchschnittlicher SI vor. In Abbildung 6 sind die Mittelwerte der SIs grafisch im Vergleich zwischen OC und benignen Zystadenomen aufgezeigt. Dabei wurden die Mittelwerte ± Standardfehler (SEM) angegeben, um die Exaktheit der Erhebung des Mittelwertes zu verdeutlichen. Zu beachten sind dabei die insgesamt niedrigen \bar{x} (SI)-Werte für eIF4B, -4E, -4G, -5A1, und -5A2.

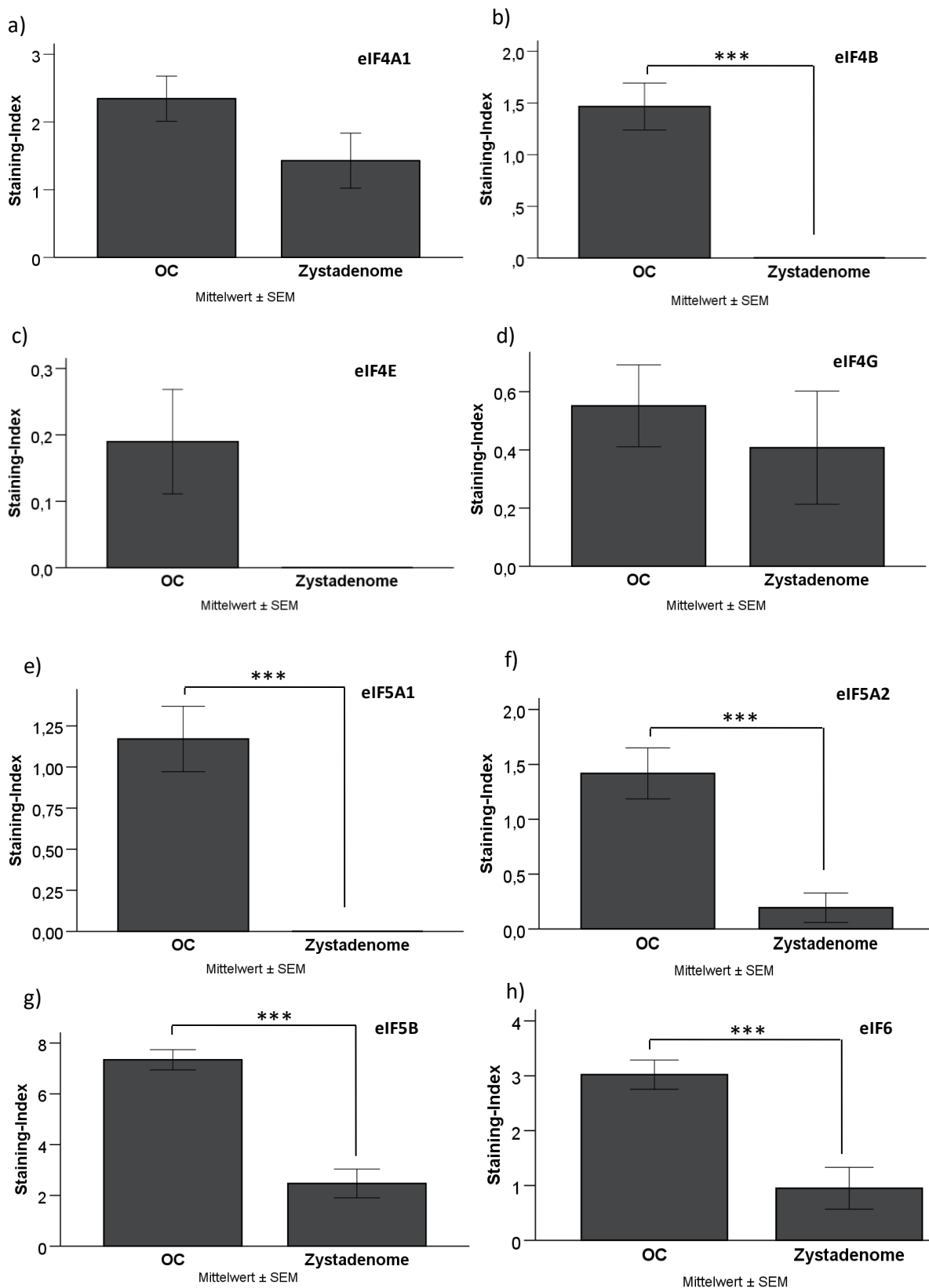


Abbildung 6: Vergleich der durchschnittlichen Staining-Indices der ausgewählten eIFs zwischen Ovarialkarzinomen und benignen Zystadenomen. Trotz ordinaler Werte wurde zur Veranschaulichung der Unterschiede der Mittelwert der Staining-Indices ($\bar{x}(SI)$) mit SEM gebildet und in Balkendiagrammen dargestellt (a-h). Zu beachten sind dabei die insgesamt niedrigen $\bar{x}(SI)$ -Werte für eIF4B, -4E, -4G, -5A1, und -5A2. Statistische Analyse: Mann-Whitney-U-Test mit *** $p < 0.001$.

3.3 Expression der eIFs im Kontrollgewebe

Um eine Aussage über das Expressionsverhalten der eIFs in Ovarialkarzinome machen zu können, müssen zunächst Cut-off-Werte festgelegt werden. Eine Überschreitung wird als Überexpression definiert. Hierzu wurden für sechs der acht eIFs immunhistochemische Färbungen des OSE von Normalovarien vorgenommen. EIF 4E und 4G zeigten in fast allen Fällen der untersuchten Ovarialtumoren eine niedrige zytoplasmatische Expression, daher wurden für diese Faktoren keine weiterführenden Untersuchungen durchgeführt. Wie bereits in Kapitel 2.4.1 beschrieben wurde ein Mittelwert der Staining-Indices für eIF4A1, -4B, -5A1, -5A2, -5B und 6 des OSE der gesunden Ovarien bestimmt. In Tabelle 13 sind diese Werte zusammen mit der Anzahl der informativen Gewebeprobe aufgeführt. Alle Staining-Indices beziehen sich auf eine zytoplasmatische Expression, eine zusätzliche nukleäre Expression wurde für die ausgewählten eIFs im OSE der Normalovarien nur für eIF5A1 beobachtet.

Tabelle 13: Mittelwerte der Staining-Indices (SI) ausgewählter eIFs für das OSE von Normalovarien mit Standardabweichung und den festgesetzten Cut-off-Werten.

		eIF4A1	eIF4B	eIF4E	eIF4G	eIF5A1	eIF5A2	eIF5B	eIF6
Anzahl (n)	Ausgewertet	17	16	0	0	18	3	19	13
	Fehlend	2	3	19	19	1	16	0	6
Mittelwert \bar{x} (SI)		3,59	2,56	-	-	6,22	2,67	0,00	1,92
STD σ (SI)		1,00	1,82	-	-	3,69	2,31	0,00	1,75
Cut-off-Werte		5	3	-	-	8	4	7	4

Eine Ausnahme wurde bei eIF5B gemacht, bei dem aufgrund der starken immunhistochemischen Farbtensitäten der Cut-off-Wert noch etwas höher gesetzt wurde im Vergleich zum Mittelwert der SIs des Kontrollgewebes. Demnach wurde von einer Überexpression gesprochen, wenn SI-Werte ≥ 5 für eIF4A1, ≥ 3 für eIF4B, ≥ 8 für eIF5A1, ≥ 4 für eIF5A2, ≥ 7 bei eIF5B und ≥ 4 bei eIF6 vorlagen. In den Abbildungen 7 bis 12 sind ausgewählte immunhistochemische Beispielfärbungen für die drei Gewebeentitäten gezeigt. Dabei beziehen sich die Farbtensitätsangaben auf zytoplasmatische Expression außer für eIF5B, für das bei den OC-Proben sowohl eine zytoplasmatische als auch nukleäre Färbung zu sehen ist. Für die eIF4B-Expression wurden die Farbtensitäten negativ bis stark beispielhaft in Abbildung 12 dargestellt.

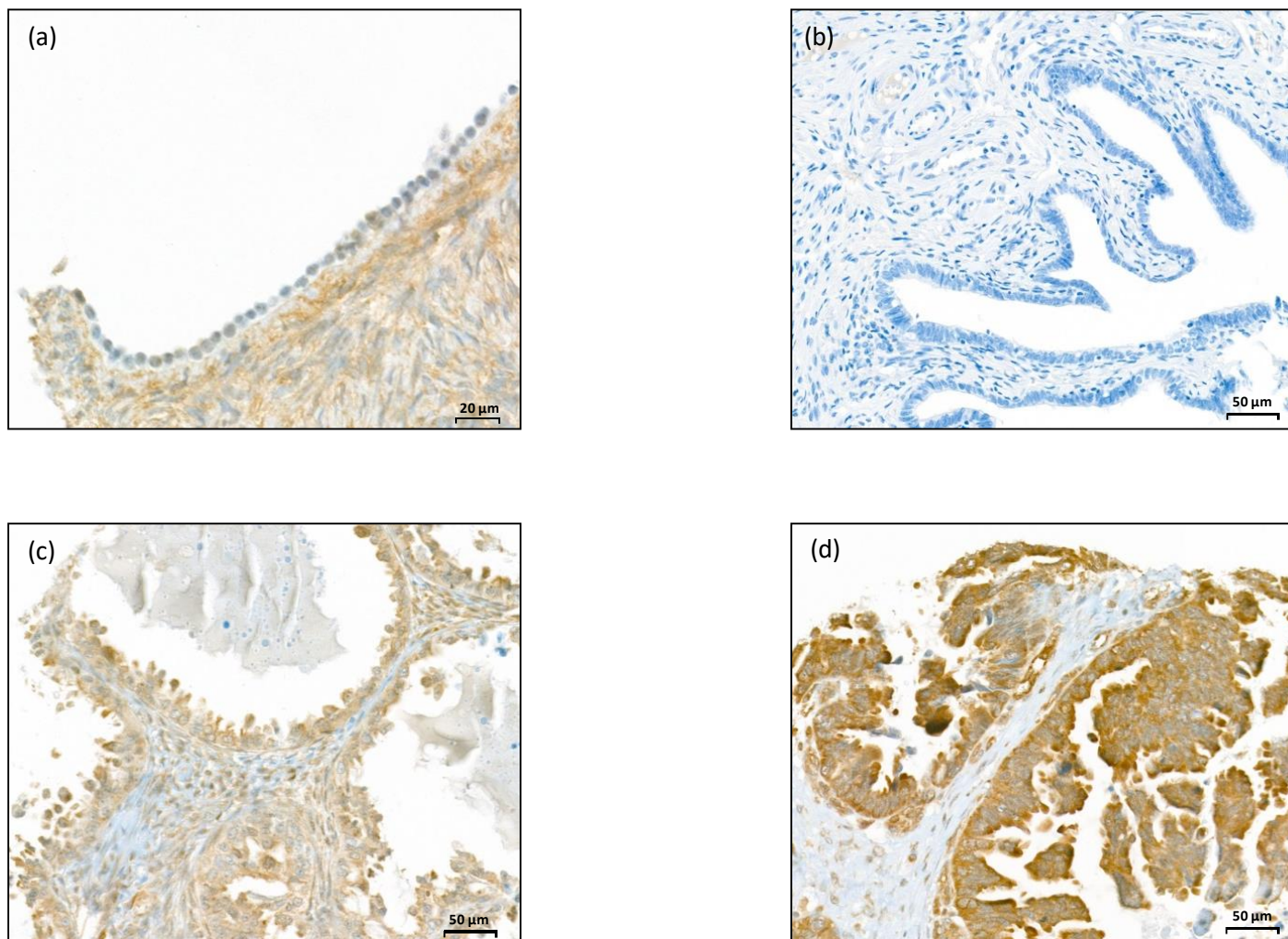


Abbildung 7 a-d: Ausgewählte immunhistochemische Färbungen von gesundem OSE als Kontrollgewebe (40x Vergrößerung), benignen ovariellen Zystadenomproben (20x Vergrößerung) sowie von serösen Ovarialkarzinomproben (20x Vergrößerung) mit eIF4A1-Antikörper. (a) OSE-Gewebeschnitt mit negativer Farbintensität, (b) Zystadenom-Gewebeschnitt mit negativer Farbintensität, (c) OC-Gewebeschnitt mit moderater Farbintensität, (d) OC-Gewebeschnitt mit starker Farbintensität.

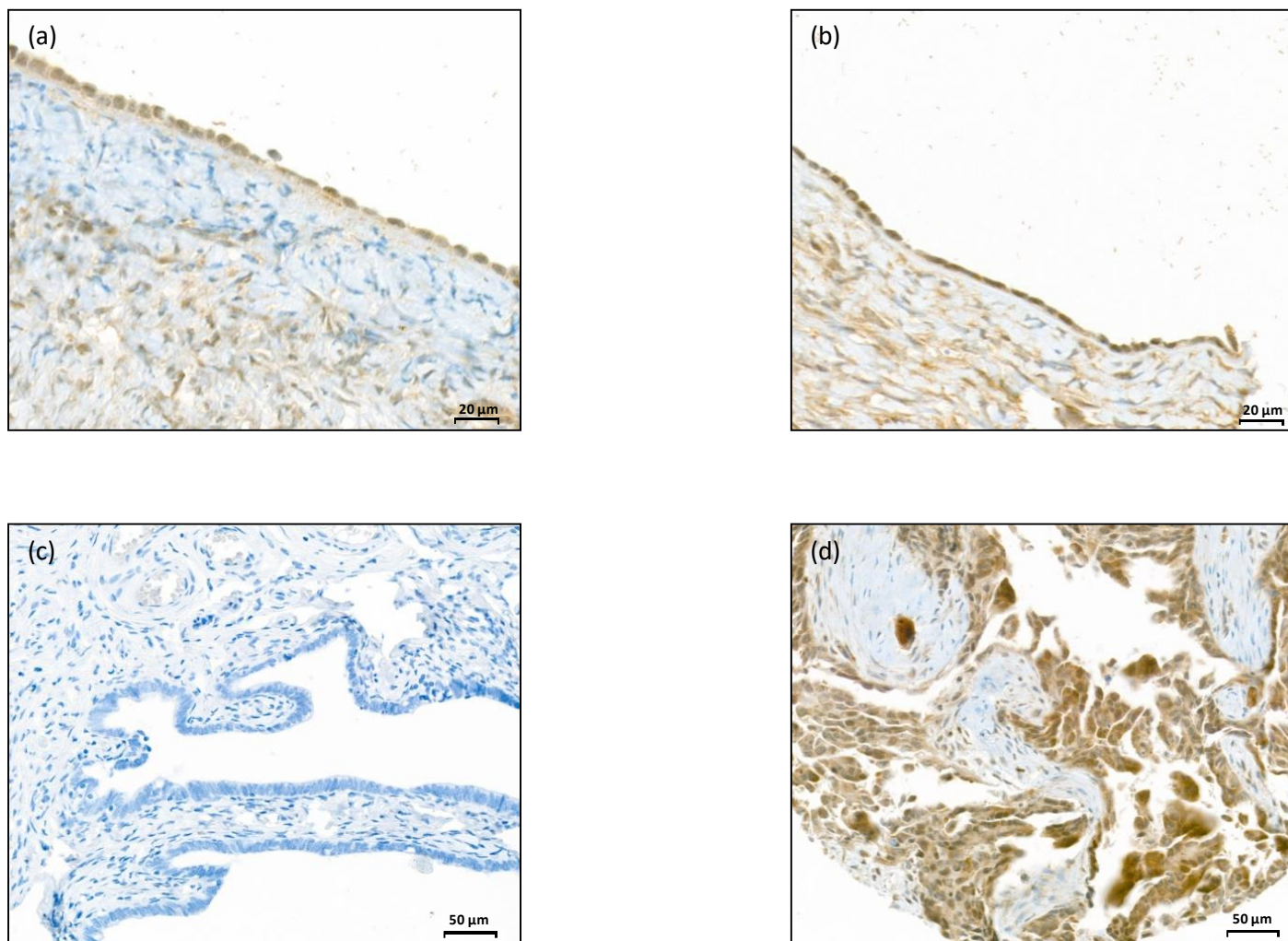


Abbildung 8 a-d: Ausgewählte immunhistochemische Färbungen von gesundem OSE als Kontrollgewebe (40x Vergrößerung), benignen ovariellen Zystadenomproben (20x Vergrößerung) sowie von serösem Ovarialkarzinomproben (20x Vergrößerung) mit eIF5A1-Antikörper. (a) OSE-Gewebeschnitt mit schwacher Farbintensität, (b) OSE-Gewebeschnitt mit moderater Farbintensität, (c) Zystadenom-Gewebeschnitt mit negativer Farbintensität, (d) OC-Gewebeschnitt mit starker Farbintensität.

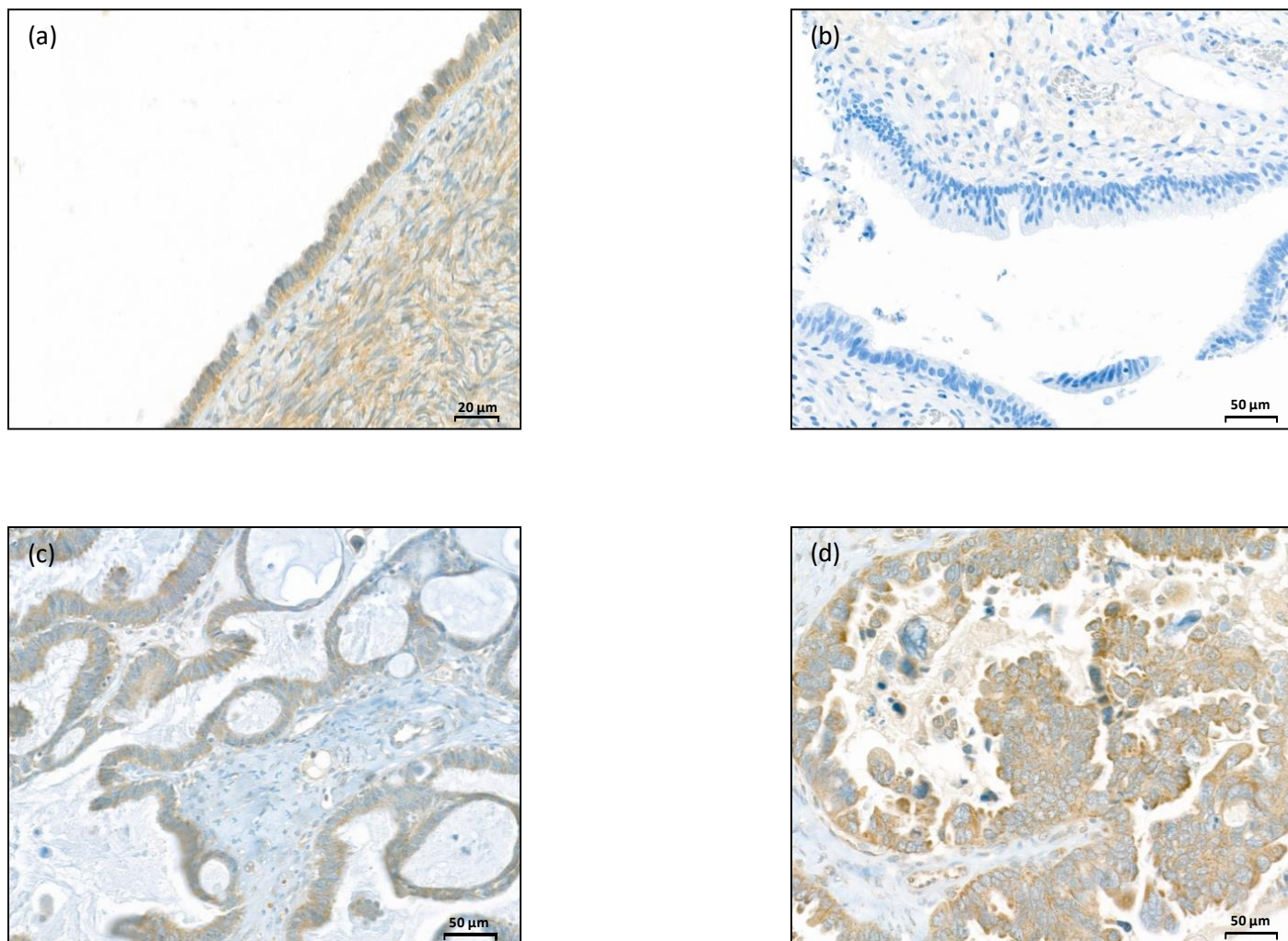


Abbildung 9 a-d: Ausgewählte immunhistochemische Färbungen von gesundem OSE als Kontrollgewebe (40x Vergrößerung), benignen ovariellen Zystadenomproben (20x Vergrößerung) sowie von serösen Ovarialkarzinomproben (20x Vergrößerung) mit eIF5A2-Antikörper. (a) OSE-Gewebeschnitt mit schwacher Farbintensität, (b) Zystadenom-Gewebeschnitt mit negativer Farbintensität, (c) OC-Gewebeschnitt mit schwacher Farbintensität, (d) OC-Gewebeschnitt mit moderater Farbintensität.

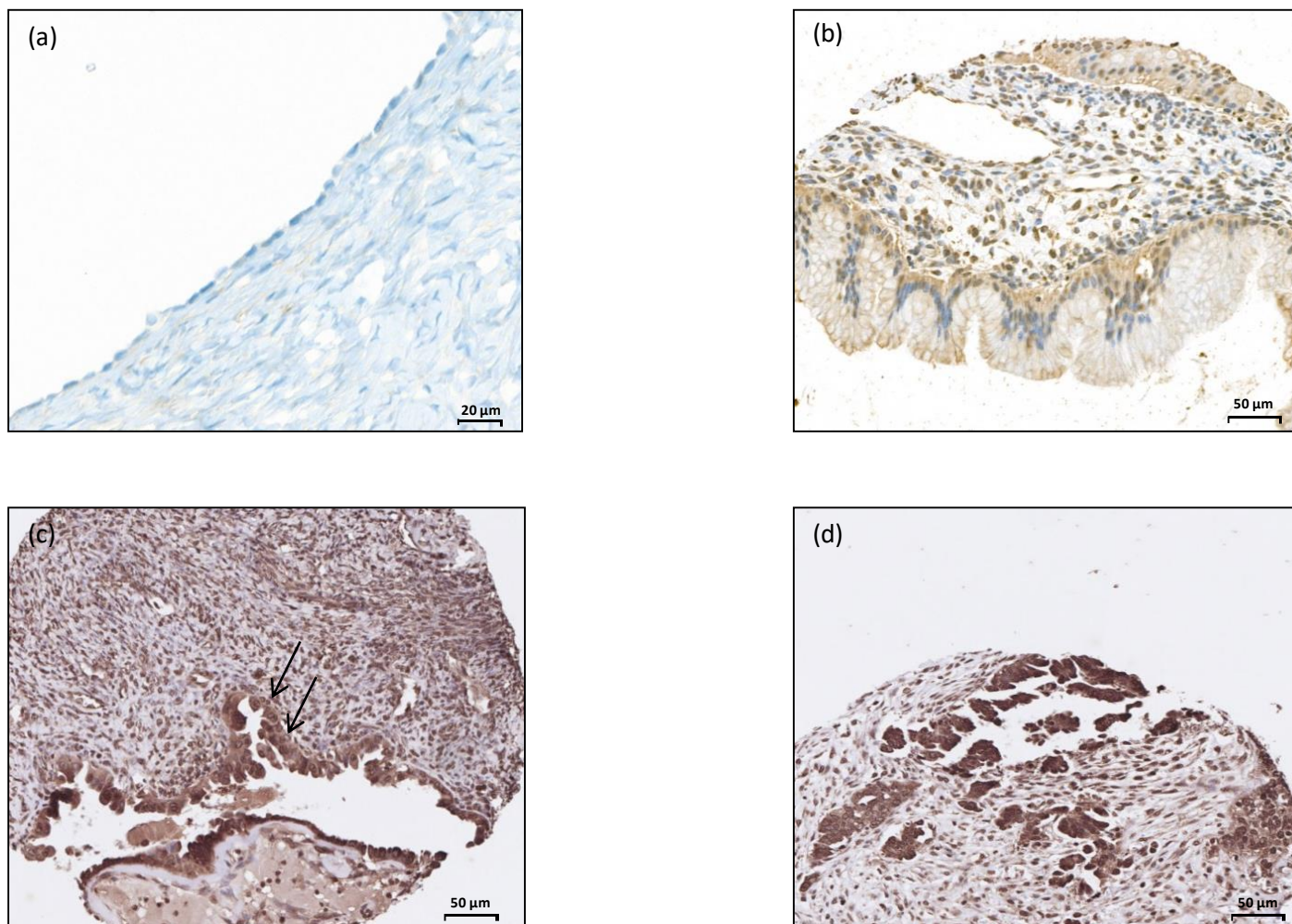


Abbildung 10 a-d: Ausgewählte immunohistochemische Färbungen von gesundem OSE als Kontrollgewebe (40x Vergrößerung), benignen ovariellen Zystadenomproben (20x Vergrößerung) sowie von serösen Ovarialkarzinomproben (20x Vergrößerung) mit eIF5B-Antikörper. (a) OSE-Gewebeschnitt mit negativer Farbintensität, (b) Zystadenom-Gewebeschnitt mit schwacher Farbintensität, (c) OC-Gewebeschnitt mit moderater Farbintensität, (d) OC-Gewebeschnitt mit starker Farbintensität.

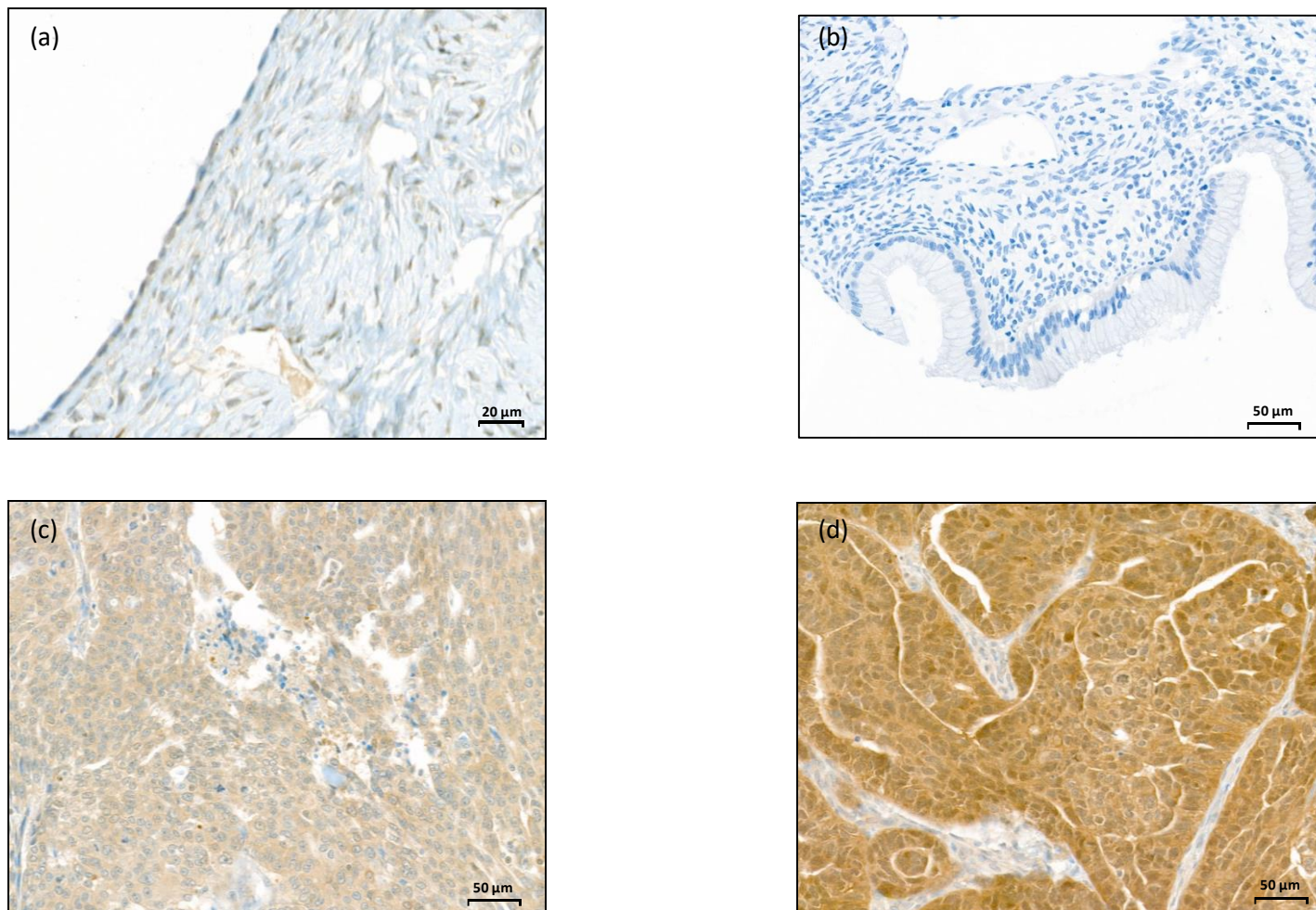


Abbildung 11 a-d: Ausgewählte immunohistochemische Färbungen von gesundem OSE als Kontrollgewebe (40x Vergrößerung), benignen ovariellen Zystadenomproben (20x Vergrößerung) sowie von serösen Ovarialkarzinomproben (20x Vergrößerung) mit eIF6-Antikörper. (a) OSE-Gewebeschnitt mit negativer Farbintensität, (b) Zystadenom-Gewebeschnitt mit negativer Farbintensität, (c) OC-Gewebeschnitt mit schwacher Farbintensität, (d) OC-Gewebeschnitt mit starker Farbintensität.

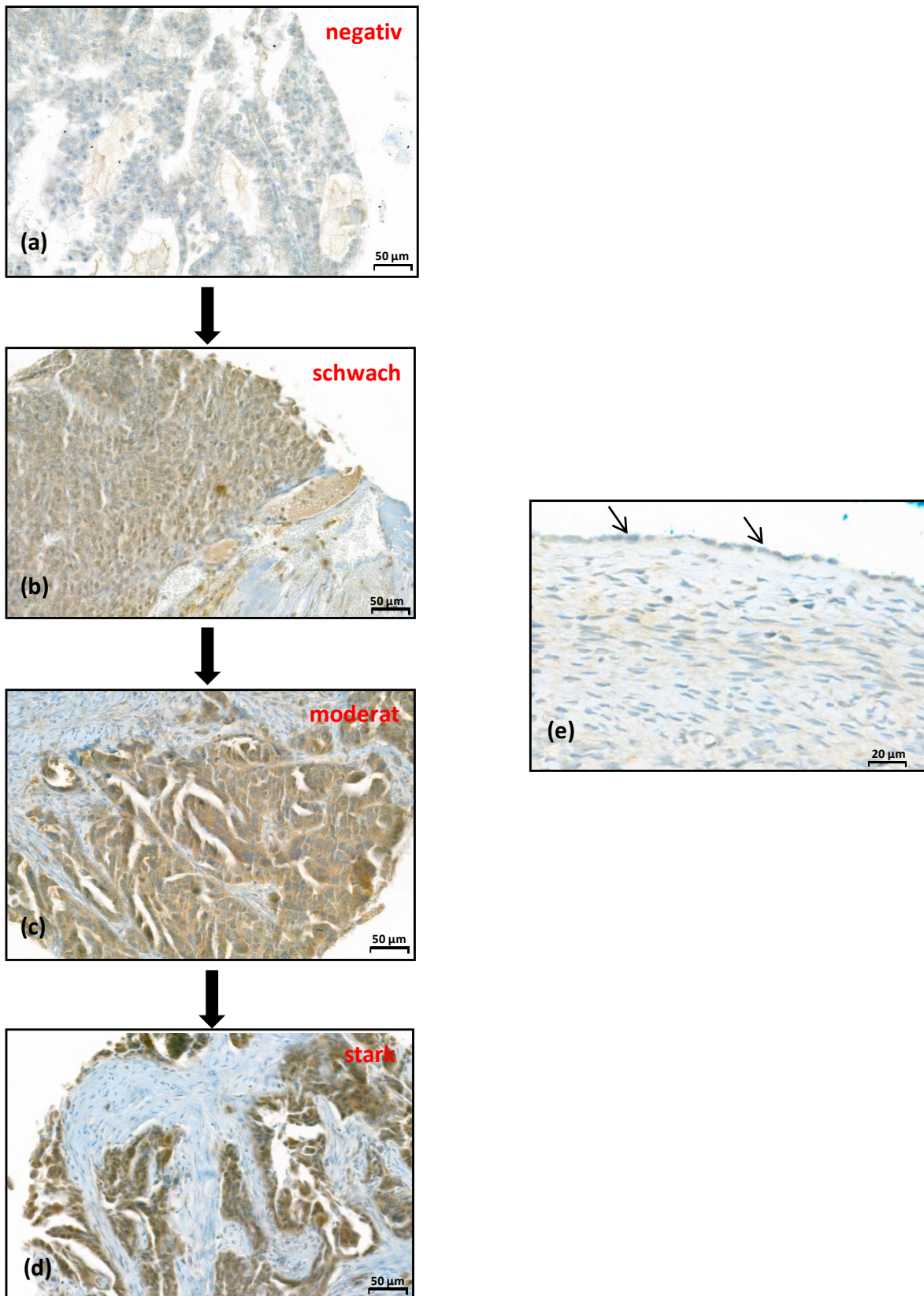


Abbildung 12 a-e: Immunhistochemische Färbungen von serösen OC-Proben in aufsteigender Farbintensität (linkes Bild) und von gesundem OSE als Kontrolle (siehe Pfeile, rechtes Bild) mit eIF4B-Antikörper. (a) negative Anfärbung, (b) schwache Intensität, (c) moderate Intensität, (d) starke Intensität, (e) negative Anfärbung des OSE

3.4 Ermittlung des Anteils an immunohistochemisch überexprimierten eIF-Proteinen in Ovarialkarzinomen und Zystadenomen

Anteil an Überexpression der eIFs in Ovarialkarzinomen

Auf Grundlage der definierten Cut-off-Werte ergaben sich hinsichtlich einer Überexpression der eIFs in OC folgende Ergebnisse, die in Abbildung 13 grafisch veranschaulicht sind. Insgesamt wurden für eIF4A1, -4B und 5A2 eine Überexpression in <20% der Fälle festgestellt. Im Detail waren es für eIF4A1 15,6%, für eIF4B 18,2% und für eIF5A2 16,5% der Fälle. Für eIF5B und 6 wurden dagegen höhere Anteile an Überexpression beobachtet. Bei eIF5B zeigten 63,6% der Fälle eine Überexpression, bei eIF6 waren es 39,6% der Fälle. Keine Überexpression lag bei allen Fällen für eIF5A1 vor.

Vergleich des Anteils an Überexpression der eIFs zwischen OC und benignen Zystadenomen

Im nächsten Schritt wurde der Anteil an Überexpression zwischen OC und benignen Zystadenomen verglichen. Es zeigte sich für alle eIFs bis auf eIF5A1 durchweg ein größerer Anteil an Überexpression bei den OC im Vergleich zu den benignen Zystadenomen. Die Signifikanz wurde mit Hilfe des Chi-Quadrat-Testes ermittelt. Bei eIF4A1 wiesen die OC im Vergleich zu den benignen Zystadenomen einen um 12,7% ($p=0,098$), bei eIF4B 18,2% ($p=0,017$), bei eIF5A2 16,5% ($p=0,016$), bei eIF5B 48,9% ($p<0,001$) und bei eIF6 29,6% ($p=0,012$) höheren Anteil an Fällen mit Überexpression auf. Die meisten Fälle mit statistisch signifikanter Überexpression wurden auch hier bei eIF5B und eIF6 beobachtet, für eIF4A1 wurde nur eine Tendenz einer vermehrten Überexpression in OC entdeckt. In Abbildung 14 sind die Vergleiche zwischen OC und benignen Zystadenomen für die sechs genannten eIFs grafisch in Balkendiagrammen demonstriert.

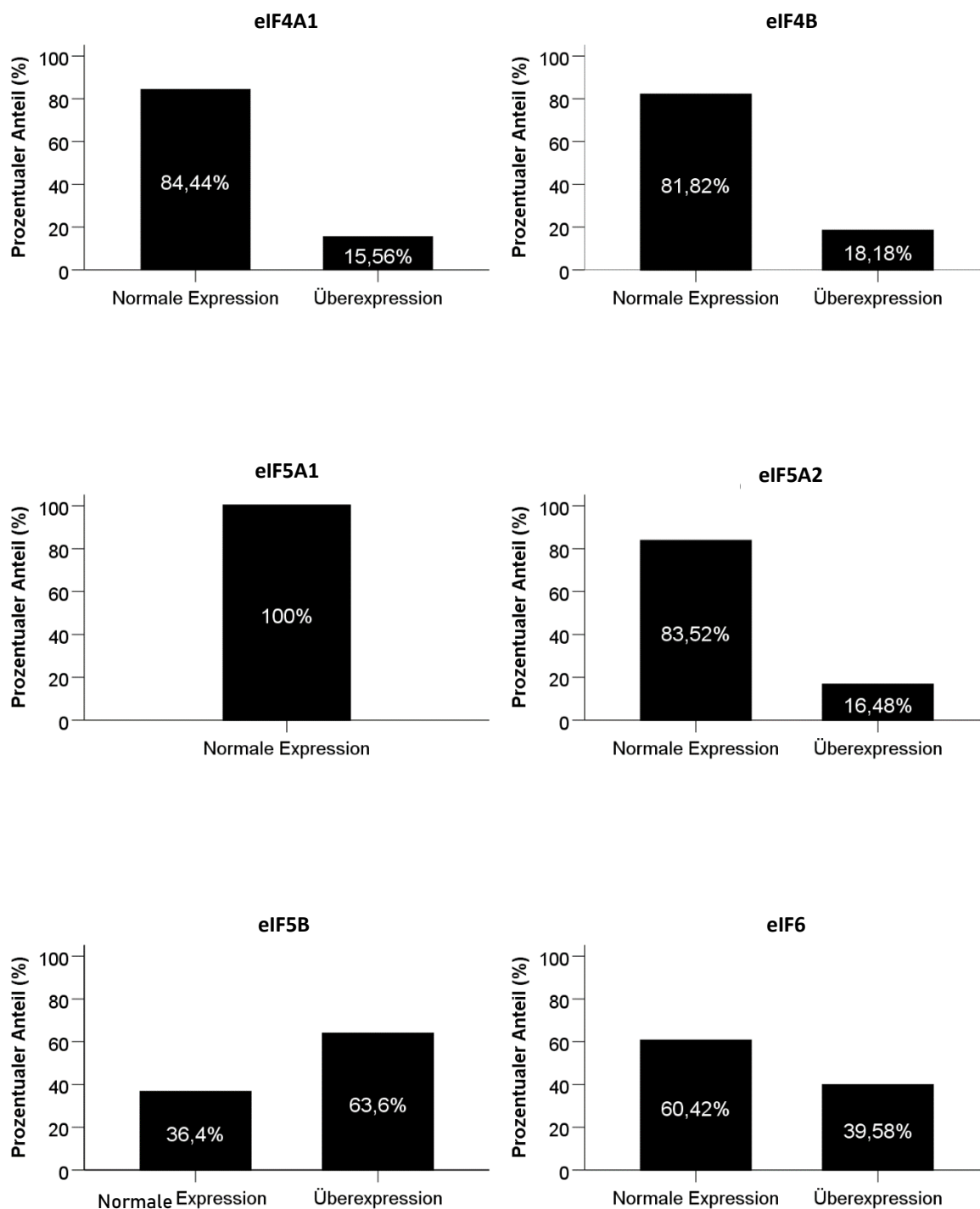


Abbildung 13: Prozentualer Anteil der immunhistochemisch bestimmten Überexpression und fehlenden/normalen Expression der eIF4A1, -4B, -5A1, -5A2, -5B und 6 in den untersuchten invasiven Ovarialkarzinomen, dargestellt in sich ergänzenden Balkendiagrammen (100%). EIF5A1 zeigte in dieser Studie keine Überexpression. EIF4A1, -4B und 5A2 zeigten eine Überexpression <20 %. Mit 63,6% bzw. 39,6% zeigten eIF5B und eIF6 die höchsten prozentualen Anteile an Überexpression.

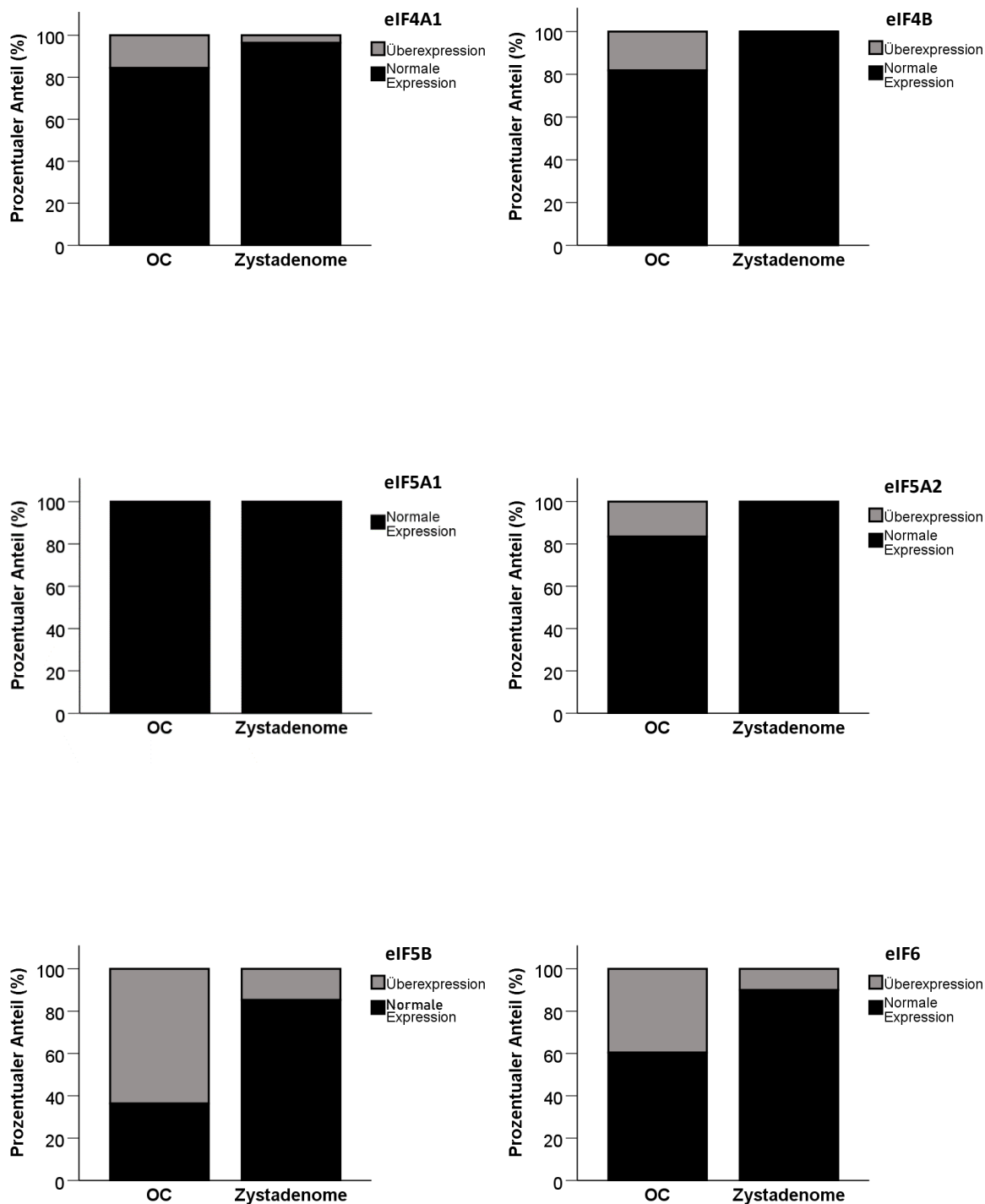


Abbildung 14: Vergleich des prozentualen Anteils an immunhistochemisch bestimmter Überexpression der eIF4A1, -4B, -5A1, -5A2, -5B und 6 zwischen den untersuchten Ovarialkarzinomen (OC) und benignen Zystadenomen in Balkendiagrammen. Prozentuale Werte der Überexpression: EIF4A1: OC mit 15,6 %, Zystadenome mit 3,6% ($p=0,098$). EIF4B: OC mit 18,2%, Zystadenome mit 0% ($p=0,017$). EIF5A2: OC mit 16,5 %, Zystadenome mit 0% ($p=0,016$). EIF5B: OC mit 63,6 %, Zystadenome mit 14,7 % ($p<0,001$). EIF6: OC mit 39,6 %, Zystadenome mit 10% ($p=0,012$). EIF5A1 zeigte in dieser Studie weder in den invasiven Ovarialkarzinomen, noch in den benignen Zystadenomen eine Überexpression. Statistische Testanalyse: Chi-Quadrat-Test.

3.5 Korrelation der eIF-Expression und klinisch-pathologischen Eigenschaften von Ovarialkarzinomen

Insgesamt wurde die Korrelation zwischen der immunhistochemisch, semiquantitativ gemessenen Expression von eIF4A1, -4B, -5A2, -5B und 6 und den klinisch-pathologischen Daten der Ovarialkarzinome untersucht. Da eIF5A1 keine Überexpression gezeigt hatte, wurde es für diese Analyse nicht weiter betrachtet. In den Tabellen 14-18 sind für die ausgewählten fünf eIFs Kreuztabellen demonstriert mit den statistischen p-Werten aus dem Chi-Quadrat-Test.

3.5.1 Korrelation zwischen eIF4A1-Expression und klinisch-pathologischen Daten

Immunhistologisch lag in 15,6% der Fälle eine eIF4A1-Überexpression vor. Mit keiner der klinisch-pathologischen Eigenschaften wurde im Rahmen des Chi-Quadrat-Tests eine statistisch signifikante Assoziation ($p < 0,05$) beobachtet. Mit zunehmend günstigeren prognostischen Faktoren lag ein höherer Anteil an Überexpression vor. So zeigten 30% der Fälle mit einem gut differenzierten Grading G1 eine Überexpression, dagegen nur 4% bzw. 17% der Fälle mit einem G2- bzw. G3-Grading ($p = 0,154$). Darüber hinaus wiesen 25% der OC mit negativem Lymphknotenstatus (pN0) eine Überexpression auf, bei positivem Lymphknotenstatus (pN1) war dies nur in 12% der Fall ($p = 0,333$). Auch bei einem günstigen FIGO I-Stadium war der Anteil der Überexpression von eIF4A1 mit 30% höher als bei einem späte FIGO III-Stadium mit 6% ($p = 0,066$). Das gleiche galt für das pT-Stadium ($p = 0,307$). Alles in allem sind die hohen p-Werte auf die geringe Fallzahl der Patienten mit Überexpression zurückzuführen (14 von 90 Fällen).

3.5.2 Korrelation zwischen eIF4B-Expression und klinisch-pathologischen Daten

Von den 88 ausgewerteten Fällen konnte in 16 Fällen (18,2%) eine Überexpression berichtet werden. Alle Fälle mit eIF4B-Überexpression lagen bei postmenopausalen Patienten ($p = 0,067$) vor. Die meisten dieser Fälle wurden beim serösen histologischen Subtyp (13 der 16 Fälle mit Überexpression, $p = 0,331$) entdeckt. Zusätzlich reduzierte sich mit zunehmendem histologischen Grading die Überexpression von eIF4B von 40% bei gut differenzierten Tumoren (G1) auf 12,3% bei schlecht differenzierten Tumoren (G3) ($p = 0,083$). Bezüglich des FIGO-Stadiums lag in 13 der 16 Fälle mit Überexpression ein Stadium III oder IV vor ($p = 0,270$). Auch wurde in 6 von 16 Fällen mit positivem Lymphknotenstatus (37,5%), dagegen nur in 4

von 18 Fällen mit negativem Lymphknotenstatus (18,2%) eine eIF4B-Überexpression beobachtet ($p=0,182$). Zuletzt zeigte sich signifikant vermehrte Überexpression von eIF4B bei Patientinnen ohne Krankheitsprogress (32%) im Vergleich zu Fällen mit Krankheitsprogress (12%, $p=0,020$).

3.5.3 Korrelation zwischen eIF5A2-Expression und klinisch-pathologischen Daten

Von den 91 immunhistochemisch auf eIF5A2 untersuchten Ovarialkarzinomen zeigten lediglich 15 (16,5%) Fälle eine Überexpression. Es wurde insgesamt kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Expression und den klinisch-pathologischen Eigenschaften Daten beobachtet. Bei 14 der 15 (93%) Fälle mit Überexpression waren die Patientinnen in einem postmenopausalen Status ($p=0,356$). Hinsichtlich des Lymphknotenstatus zeigte ein pN1-Stadium mit 31% der Fälle eine eIF5A2-Überexpression im Gegensatz zum pN0-Stadium mit nur 17 % der Fälle ($p=0,312$).

3.5.4 Korrelation zwischen eIF5B-Expression und klinisch-pathologischen Daten

Wie bereits beschrieben zeigten sich immunhistochemisch starke Färbungen von eIF5B in Ovarialkarzinomen. Sowohl zytoplasmatisch als auch nukleär war eIF5B in den allermeisten Fällen stark exprimiert. Hinsichtlich der klinisch-pathologischen Daten konnte eine signifikante Beobachtung bei den histologischen Subtypen gemacht werden. Beim endometrioiden Subtyp lag nur in 1 von 7 (14%) Fällen überexprimiertes eIF5B vor, im Gegensatz zum serösen und klarzelligen Typ mit 46 von 65 (71%) bzw. 3 von 6 (50%) Fällen ($p=0,039$). Es wurde auch beobachtet, dass mit zunehmender Malignität der Anteil an eIF5B-Überexpression zunimmt. Bezüglich des histologischen Gradings nahm dabei von G1 zu G3 der prozentuale Anteil an eIF5B-Überexpression von 40% auf 68% zu ($p=0,219$) und von pT1 zu pT3 von 53% auf 68% ($p=0,484$).

3.5.5 Korrelation zwischen eIF6-Expression und klinisch-pathologischen Daten

Alles in allem konnten 96 Fälle auf die eIF6-Expression untersucht werden, von denen immunhistochemisch 38 Fälle (39,6%) eine Überexpression aufwiesen. Zu allererst muss dabei erwähnt werden, dass eine eIF6-Überexpression in prognostisch günstigeren Faktoren zu sehen war. Besonders war eine statistisch signifikante Korrelation zwischen frühem FIGO-Stadium bzw. frühem pT-Stadium und eIF6-Überexpression zu beobachten. In einem pT1-Stadium zeigten 62% eine Überexpression des Proteins, dagegen nur 35% im pT3-Stadium

($p=0,043$). Parallel dazu zeigten 65% der Patientinnen im frühen FIGO I-Stadium eine Überexpression von eIF6, im FIGO III- und IV-Stadium waren es jeweils nur 36 % ($p=0,039$). Zusätzlich sind folgende Tendenzen aufgefallen. Bei dem größeren Teil der Fälle mit eIF6-Überexpression lag ein postmenopausaler Status vor ($p=0,362$). Ein gut differenziertes G1-Grading zeigte in 67% der Fälle eine Überexpression, bei G2- bzw. G3-gradierten Ovarialkarzinomen lediglich in 30% bzw. 38% der Fälle ($p=0,101$).

Tabelle 14: Assoziation zwischen der Expression von eIF4A1 und der klinisch-pathologischen Eigenschaften der Patienten mit Ovarialkarzinom.

Eigenschaft	Total	eIF4A1		p-Wert ^a
		Normale Expression	Überexpression	
Gesamt	90	76 (84%)	14 (16%)	
Alter				0,398
≤50	13	12 (92%)	1 (8%)	
>50	77	64 (83%)	13 (17%)	
Histologischer Subtyp				0,922
Serös	63	52 (83%)	11 (17%)	
Muzinös	2	2 (100%)	0 (0%)	
Endometrioid	9	8 (89%)	1 (11%)	
Klarzellig	6	5 (83%)	1 (17%)	
Andere	10	9 (90%)	1 (10%)	
Histologisches Grading				0,154
G1	10	7 (70%)	3 (30%)	
G2	22	21 (96%)	1 (4%)	
G3	58	48 (83%)	10 (17%)	
pT-Status				0,307
pT1	21	16 (76%)	5 (24%)	
pT2	14	11 (79%)	3 (21%)	
pT3	55	49 (89%)	6 (11%)	
pN-Status				0,333
pN0	24	18 (75%)	6 (25%)	
pN1	16	14 (88%)	2 (12 %)	
FIGO-Stadium				0,066
I	20	14 (70%)	6 (30%)	
II	13	11 (85%)	2 (15%)	
III	46	43 (94%)	3 (6%)	
IV	11	8 (73%)	3 (27%)	
Rezidiv				0,302
nein	28	22 (79%)	6 (21%)	
ja	62	54 (87%)	8 (13%)	

^a Pearson Chi-Quadrat-Test

Tabelle 15: Assoziation zwischen der Expression von eIF4B und der klinisch-pathologischen Eigenschaften der Patienten mit Ovarialkarzinom.

Eigenschaft	Total	eIF4B		p-Wert ^a
		Normale Expression	Überexpression	
Gesamt	88	72 (82%)	16 (18%)	
Alter				0,067
≤50	13	13 (100%)	0 (0%)	
>50	75	59 (79%)	16 (21%)	
Histologischer Subtyp				0,331
Serös	63	50 (79%)	13 (21%)	
Muzinös	2	2 (100%)	0 (0%)	
Endometrioid	9	9 (100%)	0 (0%)	
Klarzellig	5	3 (60%)	2 (40%)	
Andere	9	8 (89%)	1 (11%)	
Histologisches Grading				0,083
G1	10	6 (60%)	4 (40%)	
G2	21	16 (76%)	5 (24%)	
G3	57	50 (88%)	7 (12%)	
pT-Status				0,426
pT1	19	16 (84%)	3 (16%)	
pT2	14	13 (93%)	1 (7%)	
pT3	55	43 (78%)	12 (22%)	
pN-Status				0,182
pN0	22	18 (82%)	4 (18%)	
pN1	16	10 (62%)	6 (38%)	
FIGO-Stadium				0,270
I	18	15 (83%)	3 (17%)	
II	13	13 (100%)	0 (0%)	
III	46	36 (78%)	10 (22%)	
IV	11	8 (73%)	3 (27%)	
Rezidiv				0,020
nein	28	19 (68%)	9 (32%)	
ja	60	53 (88%)	7 (12%)	

^a Pearson Chi-Quadrat-Test

Tabelle 16: Assoziation zwischen der Expression von eIF5A2 und der klinisch-pathologischen Eigenschaften der Patienten mit Ovarialkarzinom.

Eigenschaft	Total	eIF5A2		p-Wert ^a
		Normale Expression	Überexpression	
Gesamt	91	76 (84%)	15 (16%)	
Alter				0,356
≤50	13	12 (92%)	1 (8%)	
>50	78	64 (82%)	14 (18%)	
Histologischer Subtyp				0,690
Serös	66	54 (82%)	12 (18%)	
Muzinös	2	2 (100%)	0 (0%)	
Endometrioid	8	6 (75%)	2 (25%)	
Klarzellig	5	5 (100%)	0 (0%)	
Andere	10	9 (90%)	1 (10%)	
Histologisches Grading				0,305
G1	11	8 (73%)	3 (27%)	
G2	22	17 (77%)	5 (23%)	
G3	58	51 (88%)	7 (12%)	
pT-Status				0,504
pT1	20	15 (75%)	5 (25%)	
pT2	13	11 (85%)	2 (15%)	
pT3	58	50 (86%)	8 (14%)	
pN-Status				0,312
pN0	23	19 (83%)	4 (17%)	
pN1	16	11 (69%)	5 (31%)	
FIGO-Stadium				0,527
I	19	14 (74%)	5 (26%)	
II	12	11 (92%)	1 (8%)	
III	50	42 (84%)	8 (16%)	
IV	10	9 (90%)	1 (10%)	
Rezidiv				0,178
nein	29	22 (76%)	7 (24%)	
ja	62	54 (87 %)	8 (13%)	

^a Pearson Chi-Quadrat-Test

Tabelle 17: Assoziation zwischen der Expression von eIF5B und der klinisch-pathologischen Eigenschaften der Patienten mit Ovarialkarzinom.

Eigenschaft	Total	eIF5B		p-Wert ^a
		Normale Expression	Überexpression	
Gesamt	88	32 (36%)	56 (64%)	
Alter				0,650
≤50	13	4 (31%)	9 (69%)	
>50	75	28 (37%)	47 (63%)	
Histologischer Subtyp				0,039
Serös	65	19 (29%)	46 (71%)	
Muzinös	1	0 (0%)	1 (100%)	
Endometrioid	7	6 (86%)	1 (14%)	
Klarzellig	6	3 (50%)	3 (50%)	
Andere	9	4 (44%)	5 (56%)	
Histologisches Grading				0,219
G1	10	6 (60%)	4 (40%)	
G2	18	7 (39%)	11 (61%)	
G3	60	19 (32%)	41 (68%)	
pT-Status				0,484
pT1	19	9 (47%)	10 (53%)	
pT2	13	5 (39%)	8 (61%)	
pT3	56	18 (32%)	36 (68%)	
pN-Status				0,717
pN0	23	9 (39%)	14 (61%)	
pN1	15	5 (33%)	10 (67%)	
FIGO-Stadium				0,234
I	18	8 (44%)	10 (56%)	
II	13	6 (46%)	7 (54%)	
III	48	13 (27%)	35 (73%)	
IV	9	5 (56%)	4 (44%)	
Rezidiv				0,930
nein	27	10 (37%)	17 (63%)	
ja	61	22 (36%)	39 (64%)	

^a Pearson Chi-Quadrat-Test

Tabelle 18: Assoziation zwischen der Expression von eIF6 und der klinisch-pathologischen Eigenschaften der Patienten mit Ovarialkarzinom.

Eigenschaft	Total	eIF6		p-Wert ^a
		Normale Expression	Überexpression	
Gesamt	96	58 (60%)	38 (40%)	
Alter				0,362
≤50	14	10 (71%)	4 (29%)	
>50	82	48 (59%)	34 (41%)	
Histologischer Subtyp				0,716
Serös	68	39 (57%)	29 (43%)	
Muzinös	3	2 (67%)	1 (33%)	
Endometrioid	9	7 (78%)	2 (22%)	
Klarzellig	6	3 (50%)	3 (50%)	
Andere	10	7 (70%)	3 (30%)	
Histologisches Grading				0,101
G1	12	4 (33%)	8 (67%)	
G2	23	16 (70%)	7 (30%)	
G3	61	38 (62%)	23 (38%)	
pT-Status				0,043
pT1	21	8 (38%)	13 (62%)	
pT2	13	10 (77%)	3 (23%)	
pT3	62	40 (65%)	22 (35%)	
pN-Status				0,748
pN0	26	14 (54%)	12 (46%)	
pN1	17	10 (59%)	7 (41%)	
FIGO-Stadium				0,039
I	20	7 (35%)	13 (65%)	
II	12	10 (83%)	2 (17 %)	
III	50	32 (64%)	18 (36%)	
IV	14	9 (64%)	5 (36%)	
Rezidiv				0,883
nein	32	19 (59%)	13 (41%)	
ja	64	39 (61%)	25 (39%)	

^a Pearson Chi-Quadrat-Test

3.6 Überlebenszeitanalyse von eIF-Expression und klinisch-pathologischen Daten

3.6.1 Korrelation zwischen klinisch-pathologischen Daten und Krankheitsfreiem Überleben

Um die Repräsentativität der Fälle der Ovarialkarzinome zu belegen wurden Überlebenszeitanalysen in Abhängigkeit der klinisch-pathologischen Eigenschaften angefertigt. Für das krankheitsfreie Überleben (DFS) stellten das FIGO-Stadium ($p=0,008$), das pT-Stadium ($p=0,003$) und das histologische Grading ($p=0,020$) signifikante Faktoren dar. Mit zunehmendem FIGO/pT-Stadium bzw. Grading verschlechterte sich dabei erwartungsgemäß das DFS. In Abbildung 15 sind diese Zusammenhänge grafisch in Kaplan-Meier-Kurven für das FIGO-Stadium und histologische Grading demonstriert. Die Signifikanz wurde durch den log-rank-Test ermittelt.

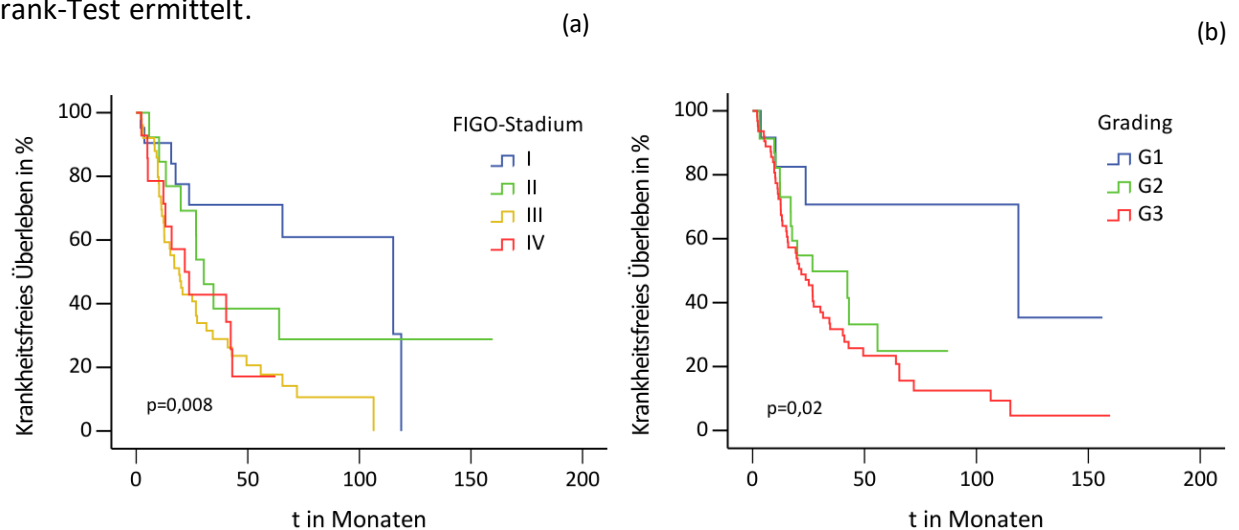


Abbildung 15: Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse (DFS) in Abhängigkeit von FIGO-Stadium (a) und histologischem Grading (b) bei $n=101$ invasiven Ovarialkarzinomen. Mit steigendem FIGO-Stadium und zunehmender histologischer Entdifferenzierung nimmt das DFS signifikant ab ($p=0,008$ bzw. $p=0,020$).

3.6.2 Korrelation zwischen eIF-Expression und Krankheitsfreiem Überleben

Im nächsten Schritt wurde das DFS für die eIF4A1, -4B, -5A2, -5B und 6 ermittelt. Hierbei konnte für eIF4A1 ($p=0,643$), -5A2 ($p=0,334$), 5B ($p=0,784$) und eIF 6 ($p=0,806$) kein Trend und keine Signifikanz gezeigt werden. Dagegen wurde für eIF4B ($p=0,034$) ein statistisch signifikantes Ergebnis beobachtet. Hierbei korrelierte eIF4B-Überexpression mit einem günstigeren krankheitsfreien Überleben. In Abbildung 16 sind die erläuterten Ergebnisse grafisch in Kaplan-Meier-Kurven zusammengestellt.

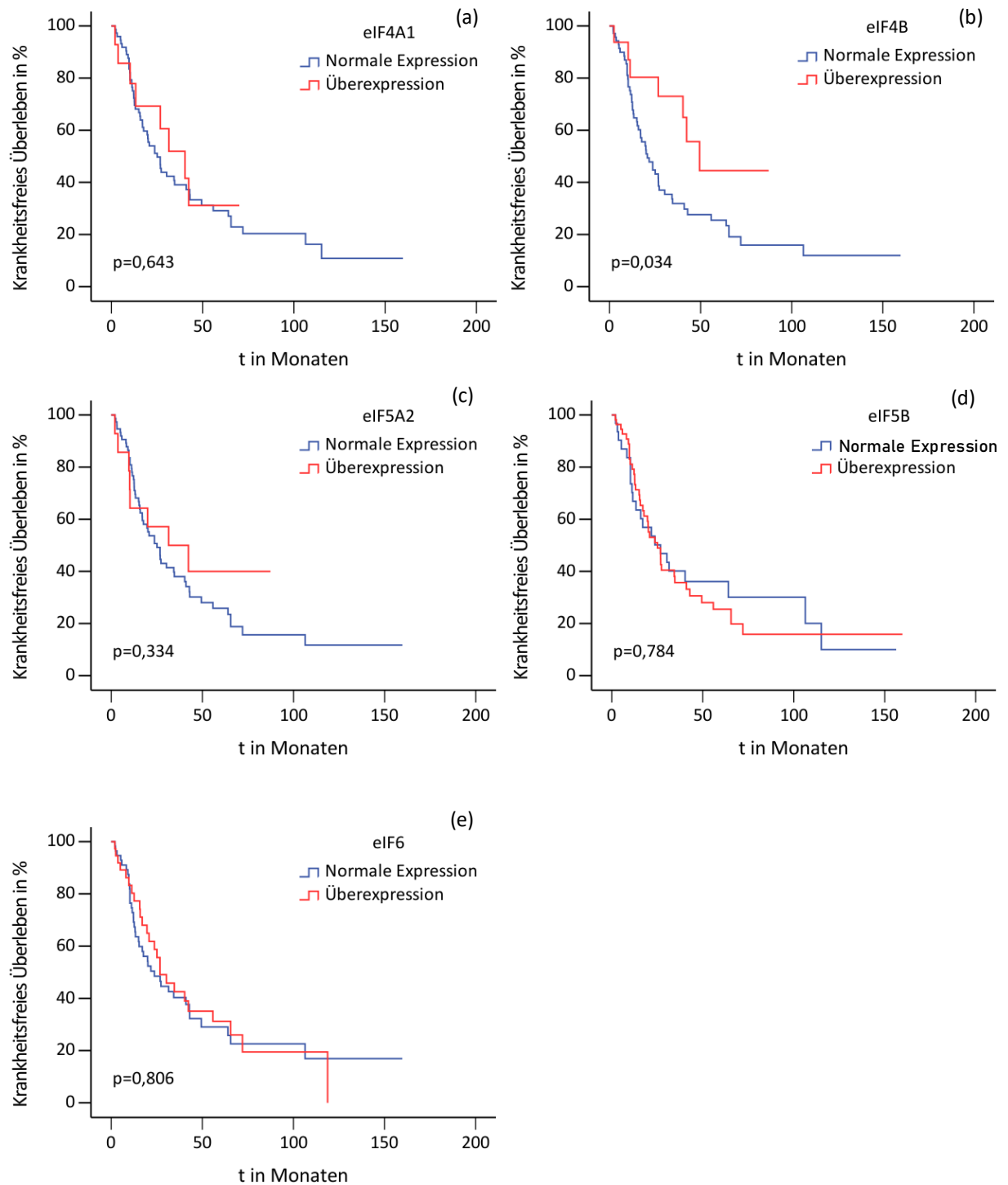
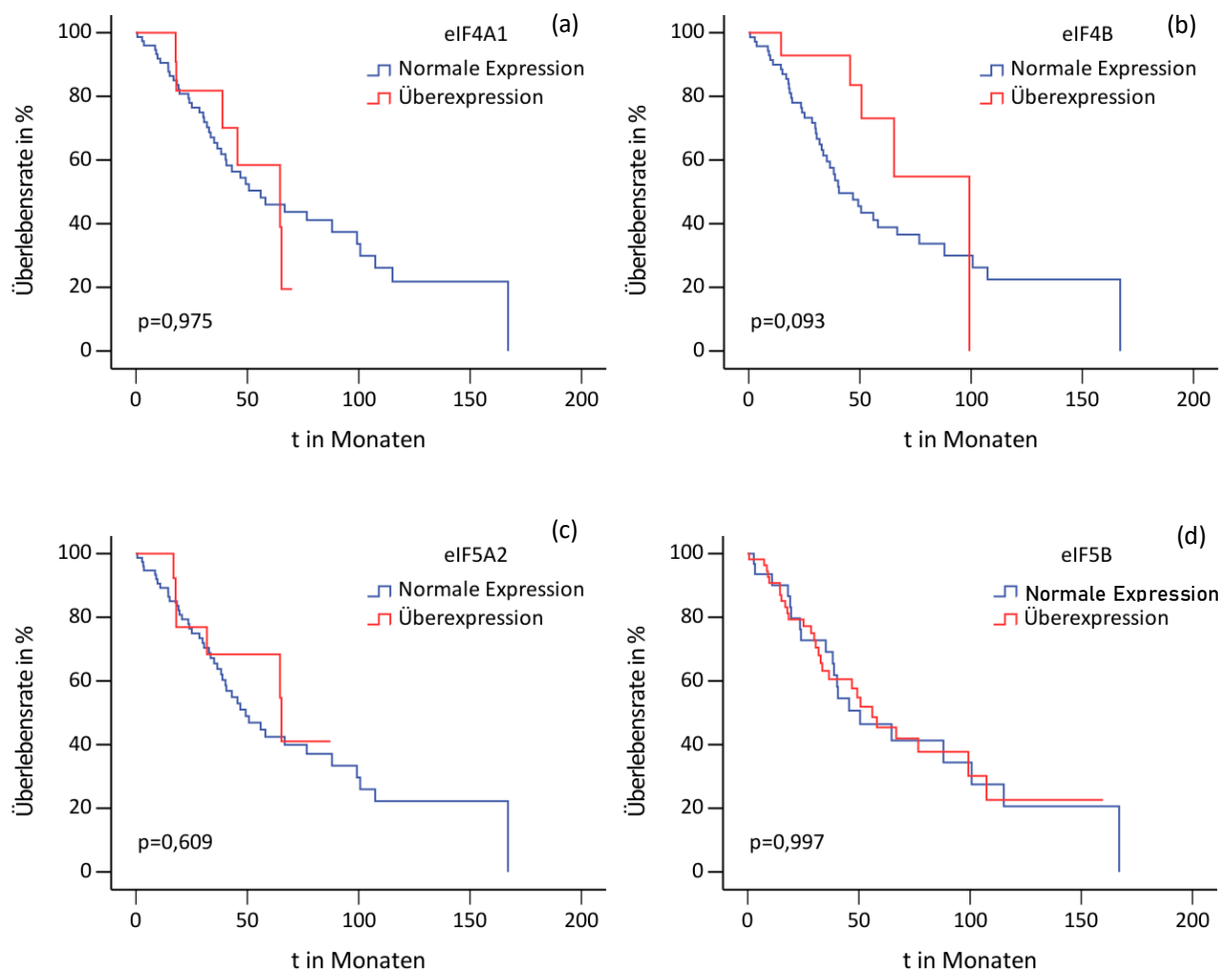


Abbildung 16: Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalysen (DFS) in Abhängigkeit der Expression von eIF4A1 (a), eIF4B (b), eIF5A2 (c), eIF5B (d), und eIF6 (e) in den untersuchten invasiven Ovarialkarzinomen. In den Kaplan-Meier-Analysen wurde bezüglich des DFS für eIF4B ein signifikantes Ergebnis beobachtet ($p=0,034$), Überexpression von eIF4B zeigt dabei ein günstigeres krankheitsfreies Überleben. Bei dem Rest der ausgewählten eIFs wurde bezüglich des DFS kein statistisch signifikantes Ergebnis gesehen.

3.6.3 Korrelation zwischen eIF-Expression und Gesamtüberleben

Als letztes wurde der Zusammenhang zwischen der eIF-Expression und dem Gesamtüberleben der Patientinnen analysiert. Hierbei war lediglich für eIF4B ($p=0,093$) ein statistischer Trend erkennbar. EIF4B-Überexpression korrelierte dabei mit einem besseren Gesamtüberleben. In Abbildung 17 sind die Kaplan-Meier-Kurven für das Gesamtüberleben grafisch dargestellt und für eIF4A1 ($p=0,975$), -5A2 ($p=0,609$), -5B ($p=0,997$) und 6 ($p=0,412$) die statistischen p-Werte gezeigt.



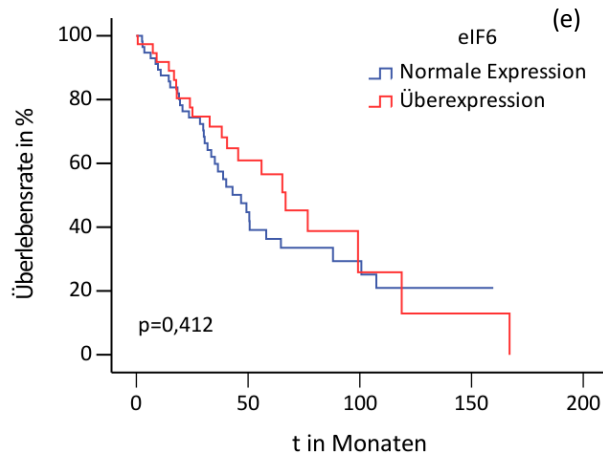


Abbildung 17: Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalysen (Gesamtüberleben) in Abhängigkeit der Expression von eIF4A1 (a), eIF4B (b), eIF5A2 (c), eIF5B (d), und eIF6 (e) in den untersuchten invasiven Ovarialkarzinomen. In den Kaplan-Meier-Analysen wurde bezüglich des Gesamtüberlebens für eIF4B eine statistische Tendenz beobachtet ($p=0,094$), Überexpression von eIF4B korreliert dabei mit einem günstigeren Gesamtüberleben. Bei dem Rest der ausgewählten eIFs wurde bezüglich des Gesamtüberlebens kein statistisch signifikantes Ergebnis gesehen.

3.7 Univariate Analyse klinisch-pathologischer Eigenschaften und von eIF4B

In einer univariaten Analyse wurden für ausgewählte klinisch-pathologische Faktoren sowie der Expression von eIF4B das Risiko (HR) eines Rezidivs (DFS) bzw. für das Versterben (Gesamtüberleben) der Patientinnen mit Ovarialkarzinomen ermittelt. Hierbei stellten das FIGO-Stadium (HR=1,508, 95% CI=1,157-1,965, $p=0,002$) sowie das histologische Grading (HR=1,711, 95% CI=1,157-2,531, $p=0,007$) für das krankheitsfreie Überleben (DFS) prognostisch ungünstige Faktoren dar. Die Expression von eIF4B (HR=0,435, 95% CI=0,197-0,961, $p=0,040$) zeigte sich, statistisch signifikant, als prognostisch günstiger Faktor für das krankheitsfreie Überleben. Der seröse Subtyp wies eine statistische Tendenz als prognostisch ungünstigen Faktor für das krankheitsfreie Überleben auf (HR=1,642, 95% CI=0,930-2,898, $p=0,087$).

Hinsichtlich des Gesamtüberlebens wurden das FIGO-Stadium (HR=1,647, 95% CI=1,198-2,265, $p=0,002$) und das histologische Grading (HR=1,535, 95% CI=1,003-2,349, $p=0,048$) als statistisch signifikante ungünstige Prognosefaktoren ermittelt. Tendenzen als prognostisch günstiger Faktor wurden bei der eIF4B-Expression (HR=0,458, 95% CI=0,180-1,167, $p=0,102$) beobachtet. Der histologische Subtyp korrelierte nicht mit dem Gesamtüberleben (HR=1,070, 95% CI=0,590-1,942, $p=0,824$). Die restlichen untersuchten eIFs (nicht in Tabelle 19 und 20 aufgelistet) zeigten in der Analyse für das krankheitsfreie Überleben als auch für das

Gesamtüberleben keine statistische Tendenz und Signifikanz. In Tabelle 19 und 20 sind die Ergebnisse zusammengefasst dargestellt.

Tabelle 19: Univariate Analyse des krankheitsfreien Überlebens (DFS) der Patientinnen mit Ovarialkarzinom.

Variable	Hazard Ratio	95% CI des HR	p-Wert
eIF4B ^a	0,435	0,197-0,961	0,040
FIGO-Stadium ^b	1,508	1,157-1,965	0,002
Histologisches Grading ^c	1,711	1,157-2,531	0,007
Histologischer Subtyp ^d	1,642	0,930-2,898	0,087

^a Normale Expression vs. Überexpression

^b FIGO I vs. FIGO II vs. FIGO III vs. FIGO IV

^c G1 vs. G2 vs. G3

^d Nicht-serös vs. seröse Subtypen

Tabelle 20: Univariate Analyse des Gesamtüberleben der Patientinnen mit Ovarialkarzinom.

Variable	Hazard Ratio	95% CI des HR	p-Wert
eIF4B ^a	0,458	0,180-1,167	0,102
FIGO-Stadium ^b	1,647	1,198-2,265	0,002
Histologisches Grading ^c	1,535	1,003-2,349	0,048
Histologischer Subtyp ^d	1,070	0,590-1,942	0,824

^a Normale Expression vs. Überexpression

^b FIGO I vs. FIGO II vs. FIGO III vs. FIGO IV

^c G1 vs. G2 vs. G3

^d Nicht-serös vs. seröse Subtypen

3.8 Multivariate Analyse klinisch-pathologischer Daten und von eIF4B

Durch Cox-Regression wurden für das krankheitsfreie Überleben (DFS) und das Gesamtüberleben mehrere relevante prognostische Faktoren aus Kap. 3.7 in einem Modell analysiert, um unabhängige prognostische Faktoren ausfindig zu machen. Im Modell sind dabei als Variablen neben der eIF4B-Überexpression das FIGO-Stadium und das histologische Grading eingegangen. Bezüglich des DFS konnte in diesem Modell für die histologischen Subtypen kein signifikanter Zusammenhang gefunden werden, trotz statistischer Tendenz in der univariaten Analyse.

Es konnte gezeigt werden, dass die eIF4B-Überexpression (HR=0,336, 95% CI=0,144-0,785, p=0,012 bzw. HR=0,351, 95% CI=0,133-0,929, p=0,035) einen unabhängigen prognostisch günstigen Faktor sowohl für das krankheitsfreie Überleben als auch für das Gesamtüberleben der Patientinnen mit invasivem Ovarialkarzinom darstellt. Als stärkster unabhängiger, ungünstiger Prognosefaktor stellte sich in beiden Analysen das FIGO-Stadium (HR=4,602, 95% CI=1,451-14,595, p=0,010 bzw. HR=4,075, 95% CI=1,145-14,508, p=0,030) heraus. In Tabelle 21 und 22 sind diese Analysen dargestellt.

Tabelle 21: Multivariate Analyse des krankheitsfreien Überlebens der Patientinnen mit Ovarialkarzinom.

Variable	Hazard Ratio	95% CI des HR	p-Wert
eIF4B ^a	0,336	0,144-0,785	0,012
FIGO-Stadium ^b	4,602	1,451-14,595	0,010
Histologisches Grading ^c	1,611	0,466-5,571	0,452

^a Normale Expression vs. Überexpression

^b FIGO I vs. FIGO IV

^c G1 vs. G2 und G3

Tabelle 22: Multivariate Analyse des Gesamtüberleben der Patientinnen mit Ovarialkarzinom.

Variable	Hazard Ratio	95% CI des HR	p-Wert
eIF4B ^a	0,351	0,133-0,929	0,035
FIGO-Stadium ^b	4,075	1,145-14,508	0,030
Histologisches Grading ^c	1,909	0,415-8,790	0,406

^a Normale Expression vs. Überexpression

^b FIGO I vs. FIGO IV

^c G1 vs. G2 und G3

4 Diskussion

In dieser Arbeit wurde die Bedeutung der eukaryotischen Initiationsfaktoren 4A1, -4B, -4E, -4G, -5A1, -5A2, -5B und 6 für invasive Ovarialkarzinome untersucht. Zusätzlich wurde ein Vergleich der Expression dieser Proteine zwischen malignen und benignen Ovarialtumoren durchgeführt. Grundlage der Untersuchungen waren immunohistochemische Färbungen von TMA-Schnitten.

4.1 Klinisch-Pathologische Eigenschaften des Patientenkollektivs

Das Alter der Patientinnen lag zwischen 20 und 82 Jahren, das durchschnittliche Alter betrug etwa 61 Jahre. Damit liegt dieser Wert nah am vom Robert-Koch-Institut (2016) veröffentlichten Wert mit 68 Jahren [117]. In etwa 2/3 der Fälle wurde bei Erstdiagnose ein fortgeschrittenes FIGO-Stadium III-IV festgestellt. Die 5-Jahresüberlebensrate der Patientinnenkohorte ergab einen Wert von ca. 45%, wobei Patientinnen mit einem früheren FIGO-Stadium erwartungsgemäß auch eine bessere Überlebensrate aufwiesen. Damit liegen diese Werte sehr nah bei den Werten, die vom Robert-Koch-Institut 2016 veröffentlicht wurden. Diese gaben an, dass 76% der Patientinnen in einem FIGO III-IV Stadium diagnostiziert werden und die Patientinnen eine 5-Jahresüberlebensrate von 47% zeigen. Bezüglich der Verteilung der histologischen Subtypen (s. Abb. 1) lässt sich sagen, dass sie mit der Verteilung in anderen Studien über Ovarialkarzinome größtenteils Übereinstimmung erfährt [25]. Demnach machen auch in dieser Kohorte die serösen OC mit 71% die meisten Fälle aus, gefolgt von den endometrioiden und klarzelligen OC mit 9 bzw. 7% und den muzinösen OC mit 3% der Fälle. Hinsichtlich des histologischen Gradings wiesen nur etwa 12% der invasiven Ovarialkarzinome ein gut differenziertes histologisches Bild (G1) auf, der Rest zeigte ein mäßig bis schlecht differenziertes Grading (G2/G3). Nach heutiger Auffassung wären damit die potentiellen LGSC unterrepräsentiert. Erwartungsgemäß sinkt signifikant mit zunehmendem histologischen Grading das krankheitsfreie Überleben der Patientinnen mit invasivem Ovarialkarzinom (s. Abb. 8b). Alle Patientinnen haben eine leitliniengerechte Therapie erfahren, die eine operative Entfernung des Tumors (sofern möglich) und eine adjuvante platin-basierte Chemotherapie beinhaltete.

Alles in allem stellt das vorliegende Patientinnenkollektiv hinsichtlich der klinischen Eigenschaften eine repräsentative Kohorte dar.

4.2 Vergleich der eIF-Expressionsmuster zwischen benignen Zystadenomen und invasiven Ovarialkarzinomen

In zweierlei Hinsicht wurde ein Vergleich der Expression der ausgewählten acht eIFs zwischen benignen Zystadenomen und invasiven Ovarialkarzinomen unternommen.

Zunächst wurde der mittlere SI der beiden Gruppen für jeden eIF berechnet, anschließend wurden diese verglichen. Für die eIF4B, -5A1, -5A2, -5B und 6 zeigte sich ein signifikant höherer durchschnittlicher SI bei OC als bei den benignen Zystadenomen. Es muss hinzugefügt werden, dass die durchschnittlichen SI für eIF4B, -5A1, und -5A2 bei OC relativ niedrig waren, welches sich darauf zurückführen lässt, dass insgesamt eine Großzahl der Fälle einen SI=0 hatten und somit eine sehr geringe Expression aufwiesen. Die Aussagekraft der Ergebnisse beim Vergleich der mittleren SIs zwischen OC und Zystadenomen für eIF4B, -5A1 und -5A2 ist demnach nur begrenzt.

Nachdem Cut-off-Werte für Überexpression bei sechs der acht eIFs mit Hilfe von gesunden Ovarien als Kontrollgewebe bestimmt worden waren, wurde der Anteil an Überexpression zwischen OC und benignen Zystadenomen verglichen. Aufgrund des malignen Charakters der OC und damit einhergehend deregulierter zellulärer Mechanismen, war wie erwartet ein signifikant höherer Anteil an Überexpression in OC-Gewebe für die eIF4B, -5A2, -5B und 6 zu verzeichnen, eIF5A1 zeigte im Vergleich in keinem der Fälle eine Überexpression. Bei beiden Vergleichen zeigte eIF4A1 lediglich eine Tendenz für vermehrte Überexpression in OC. Für die eIF5A2 und (phosphoryliertem-) eIF4E liegen Untersuchungen vor, bei dem eine Überexpression dieser Faktoren in Ovarialkarzinomen berichtet wurde. In der Studie von Yang et al. (2008) wurden insgesamt 30 benigne ovarielle Zystadenome, 30 Borderline-Tumore und 110 invasive Ovarialkarzinome auf Expression und klinische Relevanz des eIF5A2 untersucht. Bezüglich der immunhistochemischen Expression von eIF5A2 konnte interessanter Weise gezeigt werden, dass mit zunehmendem Malignitätsgrad der Anteil an Überexpression von eIF5A2 in benignen Zystadenomen (7%) über Borderline-Tumore (30%) bis hin zu invasiven Ovarialkarzinomen (53%) stetig zunahm. Als Überexpression wurde bei einem möglichen IHC-Score zwischen 0-12, wie in dieser Arbeit, ein Wert von ≥ 4 definiert [96]. Dass eIF5A2 in Ovarialkarzinomen einen höheren Anteil an Überexpression aufweist als in benignen Zystadenomen konnte auch in dieser Arbeit beobachtet werden, jedoch mit einem geringeren Wert. Während in der Studie von Yang et. al bei 58 von 110 Ovarialkarzinomen (53%) und 2

von 30 benignen Zystadenomen (7%) eine eIF5A2-Überexpression vorlag [96], zeigte sich hier nur in 16 von 91 Ovarialkarzinomen (16,5%) und in 0 von 31 benignen Zystadenomen (0%) eine entsprechende Überexpression. Es kann dennoch gesagt werden, dass die Ergebnisse in der Tendenz übereinstimmen. EIF5A2 ist ein Protein, welches durch einen Abschnitt des Chromosoms 3q26.2 kodiert wird und 82% Übereinstimmung mit der Aminosäuresequenz des eIF5A1 aufweist. EIF5A1 wird an anderer Stelle durch das Chromosom 17p13.1 kodiert. Die Amplifikation der Chromosomenregion 3q25-3q26 ist eines der häufigsten chromosomalen Veränderungen in Ovarialkarzinomen [119]. Eine Erklärung für die Überexpression wäre damit eine Genamplifikation des EIF5A2-Gens, welches über ungebremster zellulären Proliferation zum malignen Charakter der Tumore beiträgt [96]. Weiterhin wurde zur Überprüfung dieser Hypothese mittels FISH-Analyse untersucht, wie sich die Amplifikation des EIF5A2-Gens bei den Karzinomen mit eIF5A2-Überexpression verhält. Dabei wurde in allen Fällen (10/10) mit Amplifikation des EIF5A2-Gens eine Überexpression von eIF5A2 beobachtet, umgekehrt jedoch gab es viele Fälle (25/63) bei der trotz Überexpression von eIF5A2 keine Amplifikation dieser Genregion erkennbar war. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass Amplifikation des EIF5A2-Gens ein möglicher Mechanismus für die Erklärung der Überexpression von eIF5A2 ist, jedoch müssen weitere molekulare Mechanismen, wie zum Beispiel transkriptionale und posttranslationale Regulation, in Betracht gezogen werden [96].

In einer weiteren Studie wurde von Noske et al. (2008) unter anderem das Expressionsverhalten von p-eIF4E untersucht. Hierzu wurden 84 Ovarialkarzinome, 14 Borderline-Tumore und 10 benigne ovarielle Läsionen herangezogen. In der immunhistochemischen Färbung wurde in 44 von 79 (55,7%) Ovarialkarzinomen und in keiner der anderen Entitäten eine Überexpression erfasst. Auch hier lag der Cut-off-Wert bei einem IHC-Score zwischen 0-12 bei ≥ 4 [85]. In der vorliegenden Arbeit konnte für eIF4E lediglich ein Vergleich der SI zwischen OC und benignen Zystadenomen durchgeführt werden. Hier zeigte sich jedoch bei den OC ein durchschnittlicher SI, der nah bei 0 lag mit $\bar{x}(SI) = 0,17 \pm 0,70$. Bei den benignen Zystadenomen konnte jedoch wie in der Untersuchung von Noske et al. keine Expression von eIF4E beobachtet werden. Fraglich ist bei dieser Überlegung der Vergleich zwischen der immunhistochemischen Expression von p-eIF4E und unmodifiziertem eIF4E. Für die anderen beiden Subgruppen des eIF 4F-Komplexes, eIF4A und eIF4G wurden in anderen malignen Tumoren (s. Kap. 1.2.4.1) Überexpression beobachtet. Die Helicase-Aktivität von eIF4A1 wird durch eIF4B stimuliert [120]. EIF4B ist wiederum ein Zielprotein des

PI3K/Akt/mTOR-Signalwegs über die Aktivierung von S6K [121]. In Abl-transformierten Zellen, wie sie in humanen leukämischen Zellen vorkommen, scheint eIF4B ein überlebensnotwendiger Mediator zu sein, da ein eIF4B-Knockdown der Zellen apoptotische Prozesse in Gang bringt [122]. Eine Überexpression von p-eIF4B wurde in hepatozellulären Karzinomen berichtet [123]. Bislang existiert keine Studie über die Überexpression von eIF4B in Ovarialkarzinomen. In dieser Arbeit wurde in 16 von 88 (18,2%) invasiven Ovarialkarzinomen eine Überexpression dieses Proteins beobachtet, benigne Zystadenome zeigten dagegen in keiner der 27 Fälle eine Expression ($p=0,017$).

Eine weitere Erkenntnis in dieser Arbeit war die starke Überexpression von eIF5B in invasiven Ovarialkarzinomen (63,9% der Fälle) im Vergleich zu benignen Zystadenomen (14,7% der Fälle). In Glioblastomen und hepatozellulären Karzinomen wurde bereits eine Rolle von eIF5B in der Karzinogenese beschrieben [99, 124]. Über Verstärkung der Translation von überlebensnotwendigen antiapoptotischen Proteinen wie XIAP und Bcl-xL fördert eIF5B die Karzinogenese von Glioblastomen [124].

Lee et al. (2014) haben in einem Experiment unter anderem das Expressionsverhalten von eIF5B an unreifen Oozyten untersucht. Es sollte dargestellt werden inwiefern eIF5B seine Rolle im Zellzyklus entfaltet. Unreife Oozyten eignen sich hierbei gut, da sie sich hinsichtlich der Phasen des Zellzyklus in einer Ruhephase befinden, die der G₀-Phase in vielen Eigenschaften ähnelt. Zum einen wurde beobachtet, dass ein Fortschreiten des Entwicklungsstadiums der unreifen Eizelle mit einer erhöhten eIF5B-Expression einhergeht. Zum anderen konnte gezeigt werden, dass eine Überexpression von eIF5B eine erhöhte Translation und Reifung der Eizellen bewirkt und damit als eine Art „G₀-Antagonist“ wirkt [125]. In dieser Arbeit konnte signifikant gezeigt werden, dass eIF5B in serösen OC (70,8%) weitaus häufiger überexprimiert ist als in endometrioiden OC (14,3%, $p=0,039$). Es wurde in Kap. 1.1.2.5 beschrieben, dass TP53-Mutationen typisch für seröse OC sind, jedoch selten in Typ-1-Ovarialkarzinomen beobachtet werden. TP53 agiert als Tumorsuppressorgen und ist unter anderem ein essentieller Bestandteil in der Kontrolle des Zellzyklus. Bei Beschädigung der DNA leitet p53 entweder einen Zellzyklusarrest oder bei irreparablen Schäden Apoptose ein. Alterationen des TP53-Gens fördern Tumorwachstum [126]. Bei Kombination der Ergebnisse von Lee et al. und denen dieser Arbeit, könnte sich ableiten lassen, dass Überexpression von eIF5B zu einer ungehemmten Translation und damit Tumorwachstum aufgrund fehlender Regulation des

mutierten p53-Proteins führt. Zur Fortführung dieser Hypothese müsste das Zusammenspiel zwischen p53-Mutation und eIF5B weiter analysiert werden.

Ein relativ hoher Anteil an Überexpression wurde schließlich auch bei eIF6 beobachtet. In 38 von 96 invasiven Ovarialkarzinomen (39,6%) wurde eine Überexpression von eIF6 beobachtet, dagegen nur in 2 von 20 (10%) benignen Zystadenomen ($p=0,012$). Frühere Untersuchungen zeigen in einer Vielzahl von Malignomen eine Überexpression von eIF6, hierzu gehören Gallenblasenkarzinome, kolorektale Karzinome, Kopf-Hals-Karzinome, Lungenkarzinome und Ovarialkarzinome [105–109]. Flavin et al. untersuchten die Rolle von eIF6, sowie Dicer und Drosha, Proteine der Produktion von miRNA, in invasiven serösen Ovarialkarzinomen. EIF6 wird vom RISC-Komplex rekrutiert und führt über miRNA-vermittelte RNA-Interferenz zu repressiven Effekten der Proteinbiosynthese von mRNA [104]. Aus diesem Grund wurde in dieser Studie, neben Dicer und Drosha, eIF6 mituntersucht. Mittels immunhistochemischer Färbungen wurden 65 seröse Ovarialkarzinome auf die Expression von eIF6 und Dicer analysiert. In 52 von 65 Fällen (80%) wurde dabei eine Überexpression von eIF6 berichtet. Dicer zeigte ebenfalls eine Überexpression (74%). Als Kontrollgewebe diente das Oberflächenepithel von gesunden Ovarien. Damit zeigte diese Studie etwa einen doppelt so hohen Anteil an überexprimiertem eIF6 als in dieser Arbeit ermittelt wurde. Hierzu muss hinzugefügt werden, dass die immunhistochemische Auswertung in der Studie von Flavin et al. anders durchgeführt wurde als in dieser Arbeit. Es wurde lediglich die Intensität zwischen 0-3 gemessen, wobei der Cut-Off-Wert bei $\geq 1,6$ definiert wurde. Die Überexpression von eIF6 kann vermutlich durch Genamplifikation erklärt werden, da der Chromosomenlokus 20q12-13, auf dem das Gen für die Expression von eIF6 lokalisiert ist, in Ovarialkarzinomen häufig amplifiziert ist [127]. Genamplifikation führt dann zu einer Akkumulation von eIF6 [105].

Der PI3K/Akt/mTOR-Signalweg ist für eukaryotische Initiationsfaktoren wie eIF4E oder eIF4B essentiell für die translatorische Regulation. EIF6, welches als Anti-Assoziationsfaktor der 60S- und 40S-Untereinheit von Ribosomen fungiert, scheint von diesem Signalweg nicht kontrolliert zu werden [109]. Stattdessen erfolgt eine Regulation der Expression von eIF6 zum einen durch den GABP-Komplex, welches als Transkriptionsfaktor die Promotorregion von eIF6 aktiviert [128]. Zum anderen berichten Benelli et al., dass in A2780 Ovarialkarzinom-Zelllinien eine Stimulation des Notch-1-Signalwegs zu einer 2 bis 3-fach erhöhten Expression von eIF6 geführt hat. Dieser Mechanismus scheint RBP-JK-abhängig zu sein [129]. Der Notch-Signalweg ist somit als wichtiges transkriptionelles Regulationselement des eIF6 anzusehen.

4.3 Zusammenhang zwischen klinisch-pathologischen Eigenschaften und eIF-Expression in Ovarialkarzinomen

Kontrollgewebe lag für die eIF4A1, -4B, -5A1, -5A2, -5B und 6 vor, somit wurde auch nur an diesen eIFs der Zusammenhang zwischen klinisch-pathologischen Daten und Überexpression untersucht. Wie bereits erwähnt, wurde für eIF5A1 in keinem der Fälle eine Überexpression beobachtet.

4.3.1 Überexpression von eIF4A1 hängt mit günstigen klinischen-pathologischen Faktoren zusammen

In dieser Arbeit gab es Hinweise, dass eine Überexpression von eIF4A1 vermehrt in gut differenzierten Ovarialkarzinomen und in günstigen pT-, pN- und FIGO-Stadien vorkommt, wenn auch ohne statistische Signifikanz. EIF4A1 ist eine RNA-abhängige Helicase und entwindet Haarnadel-strukturen in der 5'-UTR-Region von mRNA, welche für die Translation inhibitorisch wirken [60]. Die Bedeutung dieses Proteins wurde in Ovarialkarzinomen nach aktuellem Stand nicht beschrieben. Kürzlich wurde in Magenkarzinomen eine hohe intratumorale Expression von eIF4A1 berichtet, welches mit schlechter Differenzierung, fortgeschrittenem TNM-Stadium und schlechter Prognose für das Überleben betroffener Patienten zusammenhängt. In Zelllinien von Magenkarzinomen wurde darüber hinaus gezeigt, dass überexprimiertes eIF4A1 die Migration und invasiven Fähigkeiten der Zellen fördert [83]. Ein solcher Zusammenhang konnte für invasive Ovarialkarzinome nicht beschrieben werden. Im Gegenteil, eIF4A1-Überexpression scheint mit besseren prognostischen Faktoren zusammenzuhängen. Weiterführende Studien mit höheren Fallzahlen sind nötig um diese Erkenntnis weiter auszuführen.

4.3.2 Überexpression von eIF4B hängt mit fortgeschrittenen pT- und pN-Stadien, gut differenzierten histologischen Eigenschaften und einer geringeren Rezidivrate zusammen

Interessanterweise konnten statistische Tendenzen gesehen werden, dass eine Überexpression von eIF4B vermehrt in gut differenzierten Tumoren vorkommt. Auch in fortgeschrittenen pT-, pN- und FIGO-Stadien wurde vermehrt Überexpression beobachtet, jedoch hier ohne statistische Tendenz. Statistisch signifikant höher war der Anteil an eIF4B-Überexpression bei Patientinnen ohne Rezidiv (32%) im Vergleich zu denen mit Rezidiv (12%,

$p=0,020$). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass gerade Ovarialkarzinome in FIGO III-Stadien mit guter histologischer Differenzierung (im Sinne der LGSC) eine eIF4B-Überexpression aufweisen. EIF4B ist ein RNA-bindendes Protein, welches die Helicase-Funktion von eIF4A1 verstärkt. Über den PI3K/Akt/mTOR-Signalweg wird S6K aktiviert, welches wiederum eIF4B in der Ser406-Stelle phosphoryliert und damit ebenfalls aktiviert [121]. In HeLa-Zellen, die mit siRNA gegen eIF4B transfiziert wurden konnte gezeigt werden, dass die Proliferation der Zellen sinkt, gleichzeitig antiapoptotische Proteine wie Bcl-2 in geringerem Ausmaß exprimiert werden und somit die Apoptoserate ansteigen lässt [130]. EIF4B ist somit ein wichtiger Faktor für das Überleben von malignen Zellen. Die Ergebnisse in dieser Arbeit suggerieren jedoch, dass eIF4B-Überexpression in weniger aggressiven Ovarialkarzinomen zu finden ist. Möglicherweise werden dadurch vermehrt Gene exprimiert, die die Invasivität und Malignität der Karzinome herabsetzt.

4.3.3 Überexpression von eIF5A2 hängt mit schlechtem Lymphknotenstatus

zusammen

Insgesamt zeigten von 91 untersuchten Ovarialkarzinomen 15 Fälle (16,5%) eine Überexpression von eIF5A2. Ein möglicher Zusammenhang mit den klinisch-pathologischen Daten konnte lediglich für den Lymphknotenstatus gesehen werden. Dabei zeigte sich ein prozentual höherer Anteil an Überexpression von eIF5A2 bei einem positiven Lymphknotenstatus ($p=0,312$). In der Arbeit von Yang et al. wurde für das histologische Grading, das pT-, pN- und FIGO-Stadium ein signifikanter Zusammenhang entdeckt. Je fortgeschrittener die genannten Stadien desto höher war der Anteil an überexprimiertem eIF5A2. So wurde in 37 von 51 (73%) Fällen von Patientinnen mit positivem Lymphknotenstatus eine Überexpression beobachtet, dagegen nur in 21 von 59 (36%) Fällen mit negativem Lymphknotenstatus [96]. Demnach zeigten prozentual etwa doppelt so viele Fälle eine Überexpression von eIF5A2 bei pN1-Status. In dieser Arbeit konnte in 5 von 16 (31%) Fällen mit pN1-Status eine Überexpression berichtet werden, bei pN0-Status waren dies nur 4 von 23 Fällen (17%). Prozentual wurden auch hier etwa doppelt so viele Fälle mit pN1-Status verzeichnet, die immunhistochemisch überexprimiertes eIF5A2 aufwiesen. Aufgrund der geringen Fallzahl ergibt sich hier der hohe p-Wert.

4.3.4 Überexpression von eIF5B ist in endometrioiden OC unterrepräsentiert

Mit steigendem histologischen Grading stieg der Anteil an Fällen mit überexprimiertem eIF5B, jedoch ohne statistische Signifikanz. Zudem zeigten seröse Subtypen einen signifikant höheren Anteil an eIF5B-Überexpression als Subtypen von endometrioiden Ovarialkarzinomen ($p=0,039$). Eine Hypothese der Bedeutung dieser Beobachtung für die Karzinogenese von Ovarialkarzinomen wurde in Kap. 4.2 geliefert: eIF5B-Überexpression hängt mit vermehrter Translation in unreifen Oozyten zusammen, wie Lee et al. zeigten [125]. Gleichzeitig ist eine p53-Mutation charakteristisch für Typ 2-Ovarialkarzinome, zu den die serösen Ovarialkarzinome gehören. Das Zusammenspiel von eIF5B-Überexpression und p53-Mutation könnten also molekulare Mechanismen der Karzinogenese von Typ 2-Ovarialkarzinomen sein. Zu dieser Hypothese muss hinzugefügt werden, dass in dieser Arbeit ebenfalls in 3 von 6 (50%) klarzelligen OC eine Überexpression von eIF5B gesehen wurde, diese jedoch zu Typ-1-Ovarialkarzinomen gezählt werden. Zudem ist publiziert worden, dass p53-Mutationen erwartungsgemäß in klarzelligen OC selten anzutreffen sind [131]. In den anderen Subtypen wie muzinöse und klarzellige OC mit überexprimiertem eIF5B spielen somit möglicherweise andere Mechanismen eine Rolle.

4.3.5 Überexpression von eIF6 korreliert mit prognostisch günstigen Faktoren

Ein statistisch signifikanter Zusammenhang wurde zwischen dem pT- bzw. FIGO-Stadium und der Überexpression von eIF6 in Ovarialkarzinomen entdeckt. Je früher das pT-Stadium bzw. das FIGO-Stadium, umso höher war der Anteil an überexprimiertem eIF6 ($p=0,043$ bzw. $0,039$). Gut-differenzierte Ovarialkarzinome zeigten ebenfalls einen erhöhten Anteil an eIF6-Überexpression ($p=0,101$). In der Arbeit von Flavin et al. konnte für die oben genannten klinisch-pathologischen Daten kein statistisch signifikanter Zusammenhang gesehen werden. Jedoch berichtete die Arbeitsgruppe, dass in 44 von 50 (88%) Patientinnen mit negativem Lymphknotenstatus eine eIF6-Überexpression vorlag, dagegen nur in 9 von 14 (64%) Patientinnen mit positivem Lymphknotenstatus ($p=0,04$) [105]. Dies würde zumindest die Beobachtung unterstützen, dass eIF6-Überexpression mit günstigen klinisch-pathologischen Faktoren zusammenhängt.

4.4 Zusammenhang zwischen eIF-Expression und Überleben der Patientinnen

4.4.1 Einfluss der eIF-Expression auf das krankheitsfreie Überleben und Gesamtüberleben

In dieser Arbeit konnte bezüglich des krankheitsfreien Überlebens (DFS) und Gesamtüberlebens von invasiven Ovarialkarzinomen für die eIF4A1, -5A2, 5B und eIF6 kein Einfluss gesehen werden. Jedoch zeigte eIF4B in der univariaten Analyse für das DFS und in der multivariaten Analyse für das DFS und das Gesamtüberleben einen statistisch signifikanten Zusammenhang.

In der Kaplan-Meyer-Analyse zeigte sich bei Überexpression des eIF4B eine Verbesserung des krankheitsfreien Überlebens und des Gesamtüberlebens der Patientinnen mit invasiven Ovarialkarzinomen, letzteres jedoch nur mit statistischer Tendenz. Aktuell ist keine Untersuchung bekannt, die das Überleben von invasiven Ovarialkarzinomen in Abhängigkeit der eIF4B-Expression analysiert hat.

4.4.2 Univariate Überlebenszeitanalyse

In einer univariaten Analyse wurde die Expression von eIF4B, das FIGO-Stadium, histologischer Subtyp und das histologische Grading untersucht. Bezüglich des DFS waren FIGO-Stadium und histologisches Grading signifikante prognostisch ungünstige Faktoren (HR=1,508, 95% CI=1,157-1,965, $p=0,002$ bzw. HR=1,711, 95% CI=1,157-2,531, $p=0,007$). Hinsichtlich der histologischen Subtypen zeigte der seröse Subtyp eine statistische Tendenz als prognostisch ungünstige Variable (HR=1,642, 95% CI=0,930-2,898, $p=0,087$). Für das Gesamtüberleben zeigte sich statistisch signifikant eine eIF4B-Überexpression als prognostisch günstigen Faktor und das FIGO-Stadium als prognostisch ungünstigen Faktor (HR=2,819, 95% CI=1,197-6,640, $p=0,018$). Der histologische Subtyp zeigte in dieser Arbeit keinen statistischen Zusammenhang zum Gesamtüberleben (HR=1,070, 95% CI= 0,590-1,942, $p=0,824$)

4.4.3 Multivariate Cox-Regressionsanalyse

Als letztes wurde für eIF4B eine multivariate Analyse bezüglich des krankheitsfreien Überlebens und des Gesamtüberlebens der Patientinnen mit invasiven Ovarialkarzinomen durchgeführt. Einbezogen wurden Faktoren, die in der univariaten Analyse prognostische Bedeutung für das DFS bzw. Gesamtüberleben hatten. Eingegangene Parameter in das

Regressionsmodell waren histologisches Grading, FIGO-Stadium und eIF4B-Überexpression. In dieser Arbeit wird erstmals über die eIF4B-Überexpression als unabhängiger, prognostisch günstiger Faktor sowohl für das krankheitsfreie Überleben als auch für das Gesamtüberleben von Patientinnen mit invasiven Ovarialkarzinomen berichtet (HR=0,336, 95% CI=0,144-0,785, $p=0,012$ bzw. HR=0,351, 95% CI=0,133-0,929, $p=0,035$). Dabei zeigte sich das FIGO-Stadium als unabhängiger, prognostisch ungünstigster Faktor (HR=4,602, 95% CI=1,451-14,595, $p=0,010$ bzw. HR=4,075, 95% CI=1,145-14,508, $p=0,030$). Zum jetzigen Zeitpunkt liegt keine Studie vor, die eIF4B als prognostischen Biomarker für invasive Ovarialkarzinome beschrieben hat. In der Studie von Flavin et al. (2008) wurde ebenfalls ein prognostisch günstiger eukaryotischer Initiationsfaktor entdeckt. In einer multivariaten Cox-Regressionsanalyse wurde, unter Verwendung der Faktoren Alter, Grading, FIGO-Stadium, präoperative Chemotherapie und pN-Status, für das krankheitsfreie Überleben eIF6-Überexpression als unabhängiger, prognostisch günstiger Faktor identifiziert. Geringe Expression von eIF6 war dabei mit einer schlechteren Prognose verbunden (HR=2,6, 95% CI=1,10-5,97, $p=0,03$) [105]. In dieser Arbeit konnte für eIF 6-Überexpression kein Zusammenhang mit dem DFS bzw. Gesamtüberleben gesehen werden. Jedoch unterstützt das Ergebnis aus dem Vergleich der klinisch-pathologischen Eigenschaften mit eIF 6-Expression (Kapitel 3.5.5.), bei dem ein höherer Anteil an eIF 6-Überexpression in frühen FIGO-Stadien bzw. niedrigen pT-Stadien vorlag ($p=0,039$ bzw. 0,043), die Ergebnisse von Flavin et al. (2008) [105].

4.5 Limitationen und Vorzüge der vorliegenden Studie

4.5.1 Limitationen der Studie

Zum Schluss müssen einige Aspekte aufgeführt werden, die Einfluss auf die Aussagekraft dieser Studie haben und somit limitieren.

Insgesamt wurden 135 Ovarialtumorproben von Patientinnen retrospektiv immunhistochemisch auf die Expression der eIF4A1, -4B, -4E, -4G, -5A1, -5A2, -5B und 6 untersucht, unter denen 101 Ovarialkarzinome und 34 benigne Zystadenome beinhaltet waren. Als Kontrollgewebe wurde das OSE von gesundem Ovarialgewebe ($n=19$) verwendet, basierend darauf ebenfalls die Festlegung der Cut-Off-Werte der SI-Indices ab denen von einer Überexpression gesprochen wurde. Wie in Abschnitt 1.1.2.4 beschrieben wurde, ist jedoch gerade für die HGSC das Ursprungsepithel oft der Fimbrientrichter der Tuba uterina [30]. Der Einfluss dieser Erkenntnis auf etwaige Studienergebnisse, diese miteingeschlossen, bleibt

aufgrund mangelnder Daten offen. Die Verwendung von OSE als Kontrollgewebe bei Studien zum invasiven Ovarialkarzinom, insbesondere den epithelialen Ovarialkarzinomen, sollte in künftigen Arbeiten ebenfalls kritisch hinterfragt werden.

Ein weiterer Punkt ist die geringe Anzahl an Proben mit immunhistochemischer Überexpression. EIF4A1, -4B und 5A2 zeigten in <20% der Fälle eine immunhistochemisch gemessene Proteinüberexpression. Keine Überexpression lag bei allen Fällen für eIF5A1 vor. Für eIF5B und eIF6 wurden höhere Anteile an Überexpression beobachtet (64% bzw. 40%). Die oft geringe Anzahl an Proben hatte Einfluss auf die statistische Signifikanz der Ergebnisse.

Darüber hinaus wurden in dieser Arbeit lediglich immunhistochemische Untersuchungen angefertigt. Welche molekulargenetischen Mechanismen sich wie zum Beispiel Genamplifikation oder posttranskriptionelle Genregulation hinter den gemessenen Überexpressionen verbergen bleibt somit offen.

4.5.2 Vorzüge der Studie

Bezüglich der Methodik in dieser Studie lässt sich sagen, dass durch die Verwendung des modernen BenchMark Ultra-Färbeautomaten alle immunhistochemischen Färbungen unter standardisierten Bedingungen durchgeführt wurden. Die Fehlerquellen hinsichtlich der Färbungen sind deshalb als sehr gering einzustufen. Alle verwendeten histologischen Gewebeproben wurden zudem von erfahrenen Pathologinnen und Pathologen bestätigt.

Es konnte in Abschnitt 3.4 statistisch signifikant gezeigt werden, dass eIF4B, -5A2, -5B und 6 in invasiven Ovarialkarzinomen im Vergleich zu benignen Zystadenomen immunhistochemische Überexpression aufzeigen.

Schließlich wurde in einem multivariaten Cox-Regressionsmodell eIF4B als unabhängiger, prognostisch günstiger Faktor auf das krankheitsfreie Überleben und das Gesamtüberleben von Patientinnen mit invasiven Ovarialkarzinomen beschrieben. In diesem Modell gingen prognoseentscheidende Faktoren wie das Alter oder das pN-Stadium nicht mit ein, weshalb das Ergebnis mit Vorsicht zu interpretieren ist. Nichtsdestotrotz liegen, wenn auch begrenzt, Hinweise auf prognostischen Einfluss der eIF4B-Expression in invasiven Ovarialkarzinomen vor.

5 Zusammenfassung

Trotz stetigen Fortschritten in der Medizin gehört das Ovarialkarzinom bis dato zu den bösartigen gynäkologischen Neubildungen mit der höchsten Mortalität. Ein ausschlaggebender Grund dafür ist das späte Auftreten von Symptomen und eine folglich verzögerte Diagnosestellung.

Die Erforschung von molekulargenetischen Biomarkern gewinnt in der heutigen Zeit fortlaufend an Bedeutung. Diese können diagnostisch, prognostisch oder prädiktiv dienen und damit die Therapie maligner Erkrankungen entscheidend beeinflussen. In dieser Arbeit wurden ausgewählte eukaryotische Initiationsfaktoren hinsichtlich ihrer Proteinexpression in benignen und malignen Ovarialtumoren untersucht, um zum einen die Gewebeentitäten hinsichtlich ihrer Histopathologie genauer zu verstehen und zum anderen mögliche prognostische Biomarker in Ovarialkarzinomen ausfindig zu machen. Mittels immunhistochemischer Färbungen von TMAs mit Antikörper gegen eIF4A1, -4B, -4E, -4G, -5A1, -5A2, -5B und 6 wurden benigne mit malignen Ovarialtumoren hinsichtlich ihrer Proteinexpression verglichen und die klinisch-prognostische Bedeutung in Ovarialkarzinomen untersucht. Eine mögliche prognostische Rolle von eIFs in Ovarialkarzinomen konnte bisher in Studien für die eIF5A2 [96] und eIF6 [105] berichtet werden.

In dieser Arbeit konnte eIF4B als unabhängiger, prognostisch günstiger Marker für das krankheitsfreie Überleben und das Gesamtüberleben bei Patientinnen mit Ovarialkarzinomen nachgewiesen werden. Der Anteil an eIF4B-Überexpression war bei Patientinnen ohne Rezidiv signifikant höher. Zudem zeigte sich eine Tendenz, dass die Überexpression von eIF4B mit zunehmendem Entdifferenzierungsgrad abnahm. Dies unterstützt die Erkenntnis eines prognostisch günstigen Verhaltens von eIF 4B in Ovarialkarzinomen.

Für eIF5A2 und eIF6 wurde kein prognostischer Einfluss auf das krankheitsfreie Überleben (DFS) oder Gesamtüberleben beobachtet. Jedoch wurde eine statistisch signifikante Korrelation zwischen FIGO-Stadium bzw. pT-Stadium und eIF6-Überexpression gesehen. Der Anteil an eIF6-Überexpression war in früheren FIGO-Stadien bzw. pT-Stadien höher. Diese

Ergebnisse unterstützen die Erkenntnisse aus der Studie von Flavin et al. [105] hinsichtlich der günstigen Prognose von Ovarialkarzinomen bei eIF6-Überexpression.

Interessanterweise zeigte der endometrioiden Subtyp einen statistisch signifikant verringerten Anteil an eIF5B-Überexpression. Eine mögliche Erklärung dafür wurde in Kapitel 4.3.4 wiedergegeben.

Für die übrigen eIFs konnten keine signifikanten Zusammenhänge zwischen Proteinexpression und klinisch-pathologischen Daten gesehen werden.

Aufgrund der noch begrenzten Anzahl an Studien zu diesem Thema sind weitere Untersuchungen nötig, um künftig eukaryotische Initiationsfaktoren als potenzielle Biomarker nutzen und so die Prognose dieser doch sehr letalen Krankheit verbessern zu können.

6 Literaturverzeichnis

- [1] ROBERT-KOCH-INSTITUT; BATZLER, Wolf Ulrich (Mitarb.): Krebs in Deutschland : 2003 - 2004 ; Häufigkeit und Trends ; eine gemeinsame Veröffentlichung des Robert Koch-Instituts und der Gesellschaft der Epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. 6., überarb. Aufl. Berlin, Saarbrücken : Robert Koch-Inst; Ges. der Epidemiologischen Krebsreg. in Deutschland, 2008 (Gesundheitsberichterstattung des Bundes 6.2003/04)
- [2] ZHANG, Yanting ; LUO, Ganfeng ; LI, Mengjie ; GUO, Pi ; XIAO, Yuejiao ; JI, Huanlin ; HAO, Yuantao: Global patterns and trends in ovarian cancer incidence: age, period and birth cohort analysis. In: BMC cancer 19 (2019), Nr. 1, S. 984
- [3] REID, Brett M. ; PERMUTH, Jennifer B. ; SELLERS, Thomas A.: Epidemiology of ovarian cancer: a review. In: Cancer biology & medicine 14 (2017), Nr. 1, S. 9–32
- [4] REID, Alison ; KLERK, Nick de ; MUSK, Arthur W.: Does exposure to asbestos cause ovarian cancer? A systematic literature review and meta-analysis. In: Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology 20 (2011), Nr. 7, S. 1287–1295
- [5] LAHMANN, Petra H. ; CUST, Anne E. ; FRIEDENREICH, Christine M. ; SCHULZ, Mandy ; LUKANOVA, Annekatrik ; KAKS, Rudolf ; LUNDIN, Eva ; TJØNNELAND, Anne ; HALKJAER, Jytte ; SEVERINSEN, Marianne Tang ; OVERVAD, Kim ; FOURNIER, Agnès ; CHABBERT-BUFFET, Nathalie ; CLAVEL-CHAPELON, Françoise ; DOSSUS, Laure ; PISCHON, Tobias ; BOEING, Heiner ; TRICHOPOULOU, Antonia ; LAGIOU, Pagona ; NASKA, Androniki ; PALLI, Domenico ; GRIONI, Sara ; MATTIELLO, Amalia ; TUMINO, Rosario ; SACERDOTE, Carlotta ; REDONDO, María-Luisa ; JAKSZYN, Paula ; SÁNCHEZ, María-José ; TORMO, María-José ; ARDANAZ, Eva ; ARRIOLA, Larraitz ; MANJER, Jonas ; JIRSTRÖM, Karin ; BUENO-DE-MESQUITA, H. Bas ; MAY, Anne M. ; PEETERS, Petra H. M. ; ONLAND-MORET, N. Charlotte ; BINGHAM, Sheila ; KHAW, Kay-Tee ; ALLEN, Naomi E. ; SPENCER, Elizabeth ; RINALDI, Sabina ; SLIMANI, Nadia ; CHAJES, Véronique ; MICHAUD, Dominique ; NORAT, Teresa ; RIBOLI, Elio: Anthropometric measures and epithelial ovarian cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. In: International journal of cancer 126 (2010), Nr. 10, S. 2404–2415
- [6] FINCH, Amy ; BEINER, Mario ; LUBINSKI, Jan ; LYNCH, Henry T. ; MOLLER, Pal ; ROSEN, Barry ; MURPHY, Joan ; GHADIRIAN, Parviz ; FRIEDMAN, Eitan ; FOULKES, William D. ; KIM-SING, Charmaine ; WAGNER, Teresa ; TUNG, Nadine ; COUCH, Fergus ; STOPPA-LYONNET, Dominique ; AINSWORTH, Peter ; DALY, Mary ; PASINI, Babara ; GERSHONI-BARUCH, Ruth ; ENG, Charis ; OLOPADE, Olufunmilayo I. ; MCLENNAN, Jane ; KARLAN, Beth ; WEITZEL, Jeffrey ; SUN, Ping ; NAROD, Steven A.: Salpingo-oophorectomy and the risk of ovarian, fallopian tube, and peritoneal cancers in women with a BRCA1 or BRCA2 Mutation. In: JAMA 296 (2006), Nr. 2, S. 185–192

- [7] HABER, Daniel: Prophylactic oophorectomy to reduce the risk of ovarian and breast cancer in carriers of BRCA mutations. In: *The New England journal of medicine* 346 (2002), Nr. 21, S. 1660–1662
- [8] MARCHETTI, Claudia ; FELICE, Francesca de ; PALAIA, Innocenza ; PERNIOLA, Giorgia ; MUSELLA, Angela ; MUSIO, Daniela ; MUZII, Ludovico ; TOMBOLINI, Vincenzo ; PANICI, Pierluigi Benedetti: Risk-reducing salpingo-oophorectomy: a meta-analysis on impact on ovarian cancer risk and all cause mortality in BRCA 1 and BRCA 2 mutation carriers. In: *BMC women's health* 14 (2014), S. 150
- [9] KREIENBERG, Rolf (Hrsg.); DU BOIS, Andreas (Hrsg.); PFISTERER, Jacobus (Hrsg.); SCHINDELMANN, Sabine (Mitarb.); SCHMALFELDT, Barbara (Mitarb.) : *Management des Ovarialkarzinoms : Interdisziplinäres Vorgehen*. Heidelberg : Springer Medizin, 2009 (Onkologie aktuell)
- [10] BOULTON, S. J.: Cellular functions of the BRCA tumour-suppressor proteins. In: *Biochemical Society transactions* 34 (2006), Pt 5, S. 633–645
- [11] KAST, K. ; ARNOLD, N.: *Gendiagnostik bei familiären Tumoren*
- [12] AARNIO, Markku ; SANKILA, Risto ; PUKKALA, Eero ; SALOVAARA, Reijo ; AALTONEN, Lauri A. ; LA CHAPELLE, Albert de ; PELTOMKI, Pivi ; MECKLIN, Jukka-Pekka ; JRVINEN, Heikki J.: Cancer risk in mutation carriers of DNA-mismatch-repair genes. In: *International journal of cancer* 81 (1999), Nr. 2, S. 214–218
- [13] WOOLDERINK, J. M. ; BOCK, G. H. de ; HULLU, J. A. de ; HOLLEMA, H. ; ZWEEMER, R. P. ; SLANGEN, B. F. M. ; GAARENSTROOM, K. N. ; VAN BEURDEN, M. ; VAN DOORN, H. C. ; SIJMONS, R. H. ; VASEN, H. F. A. ; MOURITS, M. J. E.: Characteristics of Lynch syndrome associated ovarian cancer. In: *Gynecologic oncology* 150 (2018), Nr. 2, S. 324–330
- [14] MCBRIDE, Kate A. ; BALLINGER, Mandy L. ; KILLICK, Emma ; KIRK, Judy ; TATTERSALL, Martin H. N. ; EELES, Rosalind A. ; THOMAS, David M. ; MITCHELL, Gillian: Li-Fraumeni syndrome: cancer risk assessment and clinical management. In: *Nature reviews. Clinical oncology* 11 (2014), Nr. 5, S. 260–271
- [15] VARGA, Dominic ; DENIZ, Miriam ; SCHWENTNER, Lukas ; WIESMÜLLER, Lisa: Ovarian cancer: in search of better marker systems based on DNA repair defects. In: *International Journal of Molecular Sciences* 14 (2013), Nr. 1, S. 640–673
- [16] MEINDL, Alfons ; DITSCH, Nina ; KAST, Karin ; RHIEM, Kerstin ; SCHMUTZLER, Rita K.: Hereditary breast and ovarian cancer: new genes, new treatments, new concepts. In: *Deutsches Arzteblatt international* 108 (2011), Nr. 19, S. 323–330
- [17] MEINHOLD-HEERLEIN, Ivo ; FOTOPOULOU, Christina ; HARTER, Philipp ; KURZEDER, Christian ; MUSTEA, Alexander ; WIMBERGER, Pauline ; HAUPTMANN, Steffen ; SEHOULI, Jalid: The new WHO classification of ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancer and its clinical implications. In: *Archives of gynecology and obstetrics* 293 (2016), Nr. 4, S. 695–700

- [18] KLÖPPEL, Günter ; KREIPE, Hans ; REMMELE, Wolfgang ; DIETEL, Manfred: Pathologie. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2013, 3.Auflage, Band 4 Mamma, Weibliches Genitale, Schwangerschaft und Kindererkrankungen
- [19] DU BOIS, A. ; TRILLSCH, F. ; MAHNER, S. ; HEITZ, F. ; HARTER, P.: Management of borderline ovarian tumors. In: *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* 27 Suppl 1 (2016), i20-i22
- [20] KÖBEL, Martin ; RAHIMI, Kurosh ; RAMBAU, Peter F. ; NAUGLER, Christopher ; LE PAGE, Cécile ; MEUNIER, Liliane ; LADURANTAYE, Manon de ; LEE, Sandra ; LEUNG, Samuel ; GOODE, Ellen L. ; RAMUS, Susan J. ; CARLSON, Joseph W. ; LI, Xiaodong ; EWANOWICH, Carol A. ; KELEMEN, Linda E. ; VANDERHYDEN, Barbara ; PROVENCHER, Diane ; HUNTSMAN, David ; LEE, Cheng-Han ; GILKS, C. Blake ; MES MASSON, Anne-Marie: An Immunohistochemical Algorithm for Ovarian Carcinoma Typing. In: *International journal of gynecological pathology : official journal of the International Society of Gynecological Pathologists* 35 (2016), Nr. 5, S. 430–441
- [21] SHIMIZU, Y. ; KAMOI, S. ; AMADA, S. ; HASUMI, K. ; AKIYAMA, F. ; SILVERBERG, S. G.: Toward the development of a universal grading system for ovarian epithelial carcinoma. I. Prognostic significance of histopathologic features--problems involved in the architectural grading system. In: *Gynecologic oncology* 70 (1998), Nr. 1, S. 2–12
- [22] HAUPTMANN, S. ; DU BOIS, A. ; MEINHOLD-HERLEIN, I. ; PFISTERER, J. ; AVRIL, S.: Histologische Malignitätsgraduierung des Ovarialkarzinoms. Überblick und Empfehlung. In: *Der Pathologe* 35 (2014), Nr. 5, S. 497–503
- [23] CARCANGIU, M. L. ; KURMAN, Robert J. ; CARCANGIU, Maria Luisa ; HERRINGTON, C. Simon: WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. 4th ed. Lyon : International Agency for Research on Cancer, 2014 (World Health Organization Classification of Tumours)
- [24] MALPICA, Anais ; DEEVERS, Michael T. ; TORNOS, Carmen ; KURMAN, Robert J. ; SOSLOW, Robert ; SEIDMAN, Jeffrey D. ; MUNSELL, Mark F. ; GAERTNER, Erich ; FRISHBERG, David ; SILVA, Elvio G.: Interobserver and intraobserver variability of a two-tier system for grading ovarian serous carcinoma. In: *The American journal of surgical pathology* 31 (2007), Nr. 8, S. 1168–1174
- [25] SÄCHSISCHE LANDESÄRZTEKAMMER ; LEIPZIGER VERLAGSANSTALT GMBH: Ärzteblatt Sachsen 05/2013
- [26] MALPICA, Anais ; DEEVERS, Michael T. ; LU, Karen ; BODURKA, Diane C. ; ATKINSON, Edward N. ; GERSHENSON, David M. ; SILVA, Elvio G.: Grading ovarian serous carcinoma using a two-tier system. In: *The American journal of surgical pathology* 28 (2004), Nr. 4, S. 496–504
- [27] AYHAN, Ayse ; KURMAN, Robert J. ; YEMELYANOVA, Anna ; VANG, Russell ; LOGANI, Sanjay ; SEIDMAN, Jeffrey D. ; SHIH, Ie-Ming: Defining the cut point between low-grade and high-grade ovarian serous carcinomas: a clinicopathologic and molecular genetic analysis. In: *The American journal of surgical pathology* 33 (2009), Nr. 8, S. 1220–1224
- [28] HRSG.: LEITLINIENPROGRAMM ONKOLOGIE: S3-Leitlinie Maligne Ovarialtumoren

- [29] KURMAN, R. J.: Origin and molecular pathogenesis of ovarian high-grade serous carcinoma. In: *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* 24 Suppl 10 (2013), x16-21
- [30] KURMAN, Robert J. ; SHIH, Ie-Ming: The Dualistic Model of Ovarian Carcinogenesis: Revisited, Revised, and Expanded. In: *The American journal of pathology* 186 (2016), Nr. 4, S. 733–747
- [31] SALAZAR, Carolina ; CAMPBELL, Ian G. ; GORRINGE, Kylie L.: When Is "Type I" Ovarian Cancer Not "Type I"? Indications of an Out-Dated Dichotomy. In: *Frontiers in oncology* 8 (2018), S. 654
- [32] AHMED, Ahmed Ashour ; ETEMADMOGHADAM, Dariush ; TEMPLE, Jillian ; LYNCH, Andy G. ; RIAD, Mohamed ; SHARMA, Raghwa ; STEWART, Colin ; FEREDAY, Sian ; CALDAS, Carlos ; DEFAZIO, Anna ; BOWTELL, David ; BRENTON, James D.: Driver mutations in TP53 are ubiquitous in high grade serous carcinoma of the ovary. In: *The Journal of pathology* 221 (2010), Nr. 1, S. 49–56
- [33] MAFFICINI, Andrea ; SIMBOLO, Michele ; PARISI, Alice ; RUSEV, Borislav ; LUCHINI, Claudio ; CATALDO, Ivana ; PIAZZOLA, Elena ; SPERANDIO, Nicola ; TURRI, Giona ; FRANCHI, Massimo ; TORTORA, Giampaolo ; BOVO, Chiara ; LAWLOR, Rita T. ; SCARPA, Aldo: BRCA somatic and germline mutation detection in paraffin embedded ovarian cancers by next-generation sequencing. In: *Oncotarget* 7 (2016), Nr. 2, S. 1076–1083
- [34] RAMALINGAM, Preetha: Morphologic, Immunophenotypic, and Molecular Features of Epithelial Ovarian Cancer. In: *Oncology (Williston Park, N.Y.)* 30 (2016), Nr. 2, S. 166–176
- [35] ROJAS, Veronica ; HIRSHFIELD, Kim M. ; GANESAN, Shridar ; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, Lorna: Molecular Characterization of Epithelial Ovarian Cancer: Implications for Diagnosis and Treatment. In: *International Journal of Molecular Sciences* 17 (2016), Nr. 12
- [36] McCLUGGAGE, W. Glenn: Morphological subtypes of ovarian carcinoma: a review with emphasis on new developments and pathogenesis. In: *Pathology* 43 (2011), Nr. 5, S. 420–432
- [37] SEIDMAN, Jeffrey D. ; KURMAN, Robert J. ; RONNETT, Brigitte M.: Primary and metastatic mucinous adenocarcinomas in the ovaries: incidence in routine practice with a new approach to improve intraoperative diagnosis. In: *The American journal of surgical pathology* 27 (2003), Nr. 7, S. 985–993
- [38] MACKENZIE, Robertson ; KOMMOSS, Stefan ; WINTERHOFF, Boris J. ; KIPP, Benjamin R. ; GARCIA, Joaquin J. ; VOSS, Jesse ; HALLING, Kevin ; KARNEZIS, Anthony ; SENZ, Janine ; YANG, Winnie ; PRIGGE, Elena-Sophie ; REUSCHENBACH, Miriam ; DOEBERITZ, Magnus Von Knebel ; GILKS, Blake C. ; HUNTSMAN, David G. ; BAKKUM-GAMEZ, Jamie ; McALPINE, Jessica N. ; ANGLISIO, Michael S.: Targeted deep sequencing of mucinous ovarian tumors reveals multiple overlapping RAS-pathway activating mutations in borderline and cancerous neoplasms. In: *BMC cancer* 15 (2015), S. 415

- [39] RYLAND, Georgina L. ; HUNTER, Sally M. ; DOYLE, Maria A. ; ROWLEY, Simone M. ; CHRISTIE, Michael ; ALLAN, Prue E. ; BOWTELL, David D. L. ; GORRINGE, Kylie L. ; CAMPBELL, Ian G.: RNF43 is a tumour suppressor gene mutated in mucinous tumours of the ovary. In: *The Journal of pathology* 229 (2013), Nr. 3, S. 469–476
- [40] JACOBS, Ian J. ; MENON, Usha ; RYAN, Andy ; GENTRY-MAHARAJ, Aleksandra ; BURNELL, Matthew ; KALSI, Jatinderpal K. ; AMSO, Nazar N. ; APOSTOLIDOU, Sophia ; BENJAMIN, Elizabeth ; CRUICKSHANK, Derek ; CRUMP, Danielle N. ; DAVIES, Susan K. ; DAWNAY, Anne ; DOBBS, Stephen ; FLETCHER, Gwendolen ; FORD, Jeremy ; GODFREY, Keith ; GUNU, Richard ; HABIB, Mariam ; HALLETT, Rachel ; HEROD, Jonathan ; JENKINS, Howard ; KARPINSKYJ, Chloe ; LEESON, Simon ; LEWIS, Sara J. ; LISTON, William R. ; LOPES, Alberto ; MOULD, Tim ; MURDOCH, John ; ORAM, David ; RABIDEAU, Dustin J. ; REYNOLDS, Karina ; SCOTT, Ian ; SEIF, Mourad W. ; SHARMA, Aarti ; SINGH, Naveena ; TAYLOR, Julie ; WARBURTON, Fiona ; WIDSCHWENDTER, Martin ; WILLIAMSON, Karin ; WOOLAS, Robert ; FALLOWFIELD, Lesley ; MCGUIRE, Alistair J. ; CAMPBELL, Stuart ; PARMAR, Mahesh ; SKATES, Steven J.: Ovarian cancer screening and mortality in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS): a randomised controlled trial. In: *The Lancet* 387 (2016), Nr. 10022, S. 945–956
- [41] BUYS, Sandra S. ; PARTRIDGE, Edward ; BLACK, Amanda ; JOHNSON, Christine C. ; LAMERATO, Lois ; ISAACS, Claudine ; REDING, Douglas J. ; GREENLEE, Robert T. ; YOKOCHI, Lance A. ; KESSEL, Bruce ; CRAWFORD, E. David ; CHURCH, Timothy R. ; ANDRIOLE, Gerald L. ; WEISSFELD, Joel L. ; FOUAD, Mona N. ; CHIA, David ; O'BRIEN, Barbara ; RAGARD, Lawrence R. ; CLAPP, Jonathan D. ; RATHMELL, Joshua M. ; RILEY, Thomas L. ; HARTGE, Patricia ; PINSKY, Paul F. ; ZHU, Claire S. ; IZMIRLIAN, Grant ; KRAMER, Barnett S. ; MILLER, Anthony B. ; XU, Jian-Lun ; PROROK, Philip C. ; GOHAGAN, John K. ; BERG, Christine D.: Effect of screening on ovarian cancer mortality: the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Randomized Controlled Trial. In: *JAMA* 305 (2011), Nr. 22, S. 2295–2303
- [42] BANKHEAD, Clare R. ; KEHOE, Sean T. ; AUSTOKER, Joan: Symptoms associated with diagnosis of ovarian cancer: a systematic review. In: *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology* 112 (2005), Nr. 7, S. 857–865
- [43] BURGESS, Alexander ; SCHMALFELDT, Barbara: Ovarian cancer: diagnosis and treatment. In: *Deutsches Arzteblatt international* 108 (2011), Nr. 38, S. 635–641
- [44] WEI, S. U. ; LI, Hui ; ZHANG, Bei: The diagnostic value of serum HE4 and CA-125 and ROMA index in ovarian cancer. In: *Biomedical reports* 5 (2016), Nr. 1, S. 41–44
- [45] SALANI, Ritu ; AXTELL, Allison ; GERARDI, Melissa ; HOLSCHNEIDER, Christine ; BRISTOW, Robert E.: Limited utility of conventional criteria for predicting unresectable disease in patients with advanced stage epithelial ovarian cancer. In: *Gynecologic oncology* 108 (2008), Nr. 2, S. 271–275
- [46] HARTER, Philipp ; SEHOULI, Jalid ; LORUSSO, Domenica ; REUSS, Alexander ; VERGOTE, Ignace ; MARTH, Christian ; KIM, Jae-Weon ; RASPAGLIESI, Francesco ; LAMPE, Björn ; ALETTI, Giovanni ; MEIER, Werner ; CIBULA, David ; MUSTEA, Alexander ; MAHNER, Sven ; RUNNEBAUM, Ingo B. ;

- SCHMALFELDT, Barbara ; BURGESS, Alexander ; KIMMIG, Rainer ; SCAMBIA, Giovanni ; GREGGI, Stefano ; HILPERT, Felix ; HASENBURG, Annette ; HILLEMANN, Peter ; GIORDA, Giorgio ; LEFFERN, Ingo von ; SCHADE-BRITTINGER, Carmen ; WAGNER, Uwe ; DU BOIS, Andreas: A Randomized Trial of Lymphadenectomy in Patients with Advanced Ovarian Neoplasms. In: *The New England journal of medicine* 380 (2019), Nr. 9, S. 822–832
- [47] MOORE, Kathleen ; COLOMBO, Nicoletta ; SCAMBIA, Giovanni ; KIM, Byoung-Gie ; OAKNIN, Ana ; FRIEDLANDER, Michael ; LISYANSKAYA, Alla ; FLOQUET, Anne ; LEARY, Alexandra ; SONKE, Gabe S. ; GOURLEY, Charlie ; BANERJEE, Susana ; OZA, Amit ; GONZÁLEZ-MARTÍN, Antonio ; AGHAJANIAN, Carol ; BRADLEY, William ; MATHEWS, Cara ; LIU, Joyce ; LOWE, Elizabeth S. ; BLOOMFIELD, Ralph ; DISILVESTRO, Paul: Maintenance Olaparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. In: *The New England journal of medicine* 379 (2018), Nr. 26, S. 2495–2505
- [48] PETRU, Edgar ; FINK, Daniel ; KÖCHLI, Ossi R. ; LOIBL, Sibylle: *Praxisbuch Gynäkologische Onkologie*. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2019
- [49] DU BOIS, Andreas ; REUSS, Alexander ; PUJADE-LAURAIN, Eric ; HARTER, Philipp ; RAY-COQUARD, Isabelle ; PFISTERER, Jacobus: Role of surgical outcome as prognostic factor in advanced epithelial ovarian cancer: a combined exploratory analysis of 3 prospectively randomized phase 3 multicenter trials: by the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Studiengruppe Ovarialkarzinom (AGO-OVAR) and the Groupe d'Investigateurs Nationaux Pour les Etudes des Cancers de l'Ovaire (GINECO). In: *Cancer* 115 (2009), Nr. 6, S. 1234–1244
- [50] JACKSON, Richard J. ; HELLEN, Christopher U. T. ; PESTOVA, Tatyana V.: The mechanism of eukaryotic translation initiation and principles of its regulation. In: *Nature reviews. Molecular cell biology* 11 (2010), Nr. 2, S. 113–127
- [51] BEN-SHEM, Adam ; GARREAU DE LOUBRESSE, Nicolas ; MELNIKOV, Sergey ; JENNER, Lasse ; YUSUPOVA, Gulnara ; YUSUPOV, Marat: The structure of the eukaryotic ribosome at 3.0 Å resolution. In: *Science (New York, N.Y.)* 334 (2011), Nr. 6062, S. 1524–1529
- [52] VERA, Maria ; BISWAS, Jeetayu ; SENECA, Adrien ; SINGER, Robert H. ; PARK, Hye Yoon: Single-Cell and Single-Molecule Analysis of Gene Expression Regulation. In: *Annual review of genetics* 50 (2016), S. 267–291
- [53] IBORRA, F. J. ; JACKSON, D. A. ; COOK, P. R.: Coupled transcription and translation within nuclei of mammalian cells. In: *Science (New York, N.Y.)* 293 (2001), Nr. 5532, S. 1139–1142
- [54] REES, Douglas C. ; JOHNSON, Eric ; LEWINSON, Oded: ABC transporters: the power to change. In: *Nature reviews. Molecular cell biology* 10 (2009), Nr. 3, S. 218–227
- [55] THOMPSON, Mary K. ; GILBERT, Wendy V.: mRNA length-sensing in eukaryotic translation: reconsidering the "closed loop" and its implications for translational control. In: *Current genetics* 63 (2017), Nr. 4, S. 613–620

- [56] KOZAK, M.: Structural features in eukaryotic mRNAs that modulate the initiation of translation. In: *The Journal of biological chemistry* 266 (1991), Nr. 30, S. 19867–19870
- [57] PESTOVA, Tatyana V. ; KOLUPAEVA, Victoria G.: The roles of individual eukaryotic translation initiation factors in ribosomal scanning and initiation codon selection. In: *Genes & development* 16 (2002), Nr. 22, S. 2906–2922
- [58] PAULIN, Fiona E.M ; CAMPBELL, Linda E. ; O'BRIEN, Kirsty ; LOUGHLIN, Jane ; PROUD, Christopher G.: Eukaryotic translation initiation factor 5 (eIF5) acts as a classical GTPase-activator protein. In: *Current Biology* 11 (2001), Nr. 1, S. 55–59
- [59] PESTOVA, T. V. ; LOMAKIN, I. B. ; LEE, J. H. ; CHOI, S. K. ; DEVER, T. E. ; HELLEN, C. U.: The joining of ribosomal subunits in eukaryotes requires eIF5B. In: *Nature* 403 (2000), Nr. 6767, S. 332–335
- [60] LORENI, F. ; MANCINO, M. ; BIFFO, S.: Translation factors and ribosomal proteins control tumor onset and progression: how? In: *Oncogene* 33 (2014), Nr. 17, S. 2145–2156
- [61] PROUD, C. G.: Regulation of protein synthesis by insulin. In: *Biochemical Society transactions* 34 (2006), Pt 2, S. 213–216
- [62] DALTON, Lucy E. ; HEALEY, Eleanor ; IRVING, James ; MARCINIAK, Stefan J.: Phosphoproteins in stress-induced disease. In: *Progress in molecular biology and translational science* 106 (2012), S. 189–221
- [63] ZHOU, Donghui ; PALAM, L. Reddy ; JIANG, Li ; NARASIMHAN, Jana ; STASCHKE, Kirk A. ; WEK, Ronald C.: Phosphorylation of eIF2 directs ATF5 translational control in response to diverse stress conditions. In: *The Journal of biological chemistry* 283 (2008), Nr. 11, S. 7064–7073
- [64] VATTEM, Krishna M. ; WEK, Ronald C.: Reinitiation involving upstream ORFs regulates ATF4 mRNA translation in mammalian cells. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (2004), Nr. 31, S. 11269–11274
- [65] SONENBERG, Nahum ; HINNEBUSCH, Alan G.: Regulation of translation initiation in eukaryotes: mechanisms and biological targets. In: *Cell* 136 (2009), Nr. 4, S. 731–745
- [66] UEDA, Takeshi ; WATANABE-FUKUNAGA, Rie ; FUKUYAMA, Hidehiro ; NAGATA, Shigekazu ; FUKUNAGA, Rikiro: Mnk2 and Mnk1 are essential for constitutive and inducible phosphorylation of eukaryotic initiation factor 4E but not for cell growth or development. In: *Molecular and cellular biology* 24 (2004), Nr. 15, S. 6539–6549
- [67] WENDEL, Hans-Guido ; SILVA, Ricardo L. A. ; MALINA, Abba ; MILLS, John R. ; ZHU, Hong ; UEDA, Takeshi ; WATANABE-FUKUNAGA, Rie ; FUKUNAGA, Rikiro ; TERUYA-FELDSTEIN, Julie ; PELLETIER, Jerry ; LOWE, Scott W.: Dissecting eIF4E action in tumorigenesis. In: *Genes & development* 21 (2007), Nr. 24, S. 3232–3237
- [68] RAUGHT, Brian ; PEIRETTI, Franck ; GINGRAS, Anne-Claude ; LIVINGSTONE, Mark ; SHAHBAZIAN, David ; MAYEUR, Greg L. ; POLAKIEWICZ, Roberto D. ; SONENBERG, Nahum ; HERSHEY, John W.

- B.: Phosphorylation of eucaryotic translation initiation factor 4B Ser422 is modulated by S6 kinases. In: *The EMBO journal* 23 (2004), Nr. 8, S. 1761–1769
- [69] HEINRICH, Peter C. ; MÜLLER, Matthias ; GRAEVE, Lutz ; LÖFFLER, Georg: *Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie. 9., vollst. überarb. Aufl.* Berlin : Springer, 2014 (Springer-Lehrbuch)
- [70] MUCKENTHALER, Martina ; GRAY, Nicola K. ; HENTZE, Matthias W.: IRP-1 Binding to Ferritin mRNA Prevents the Recruitment of the Small Ribosomal Subunit by the Cap-Binding Complex eIF4F. In: *Molecular Cell* 2 (1998), Nr. 3, S. 383–388
- [71] FILIPOWICZ, Witold ; BHATTACHARYYA, Suvendra N. ; SONENBERG, Nahum: Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? In: *Nature reviews. Genetics* 9 (2008), Nr. 2, S. 102–114
- [72] KERVESTIN, Stephanie ; JACOBSON, Allan: NMD: a multifaceted response to premature translational termination. In: *Nature reviews. Molecular cell biology* 13 (2012), Nr. 11, S. 700–712
- [73] HUNTZINGER, Eric ; IZAURRALDE, Elisa: Gene silencing by microRNAs: contributions of translational repression and mRNA decay. In: *Nature reviews. Genetics* 12 (2011), Nr. 2, S. 99–110
- [74] HE, Lin ; HANNON, Gregory J.: MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. In: *Nature reviews. Genetics* 5 (2004), Nr. 7, S. 522–531
- [75] JACKSON, Richard J. ; STANDART, Nancy: How do microRNAs regulate gene expression? In: *Science's STKE : signal transduction knowledge environment* 2007 (2007), Nr. 367, re1
- [76] BEHM-ANSMANT, Isabelle ; REHWINKEL, Jan ; DOERKS, Tobias ; STARK, Alexander ; BORK, Peer ; IZAURRALDE, Elisa: mRNA degradation by miRNAs and GW182 requires both CCR4:NOT deadenylase and DCP1:DCP2 decapping complexes. In: *Genes & development* 20 (2006), Nr. 14, S. 1885–1898
- [77] BEHM-ANSMANT, Isabelle ; IZAURRALDE, Elisa: Quality control of gene expression: a stepwise assembly pathway for the surveillance complex that triggers nonsense-mediated mRNA decay. In: *Genes & development* 20 (2006), Nr. 4, S. 391–398
- [78] WANG, Ding ; ZAVADIL, Jiri ; MARTIN, Leenus ; PARISI, Fabio ; FRIEDMAN, Eugene ; LEVY, David ; HARDING, Heather ; RON, David ; GARDNER, Lawrence B.: Inhibition of nonsense-mediated RNA decay by the tumor microenvironment promotes tumorigenesis. In: *Molecular and cellular biology* 31 (2011), Nr. 17, S. 3670–3680
- [79] GINGRAS, A. C. ; RAUGHT, B. ; SONENBERG, N.: eIF4 initiation factors: effectors of mRNA recruitment to ribosomes and regulators of translation. In: *Annual review of biochemistry* 68 (1999), S. 913–963

- [80] SPILKA, Rita ; ERNST, Christina ; MEHTA, Anita Kuldeep ; HAYBAECK, Johannes: Eukaryotic translation initiation factors in cancer development and progression. In: *Cancer letters* 340 (2013), Nr. 1, S. 9–21
- [81] SHUDA, M. ; KONDOH, N. ; TANAKA, K. ; RYO, A. ; WAKATSUKI, T. ; HADA, A. ; GOSEKI, N. ; IGARI, T. ; HATSUSE, K. ; AIHARA, T. ; HORIUCHI, S. ; SHICHITA, M. ; YAMAMOTO, N. ; YAMAMOTO, M.: Enhanced expression of translation factor mRNAs in hepatocellular carcinoma. In: *Anticancer research* 20 (2000), Nr. 4, S. 2489–2494
- [82] EBERLE, J. ; KRASAGAKIS, K. ; ORFANOS, C. E.: Translation initiation factor eIF-4A1 mRNA is consistently overexpressed in human melanoma cells in vitro. In: *International journal of cancer* 71 (1997), Nr. 3, S. 396–401
- [83] GAO, Chanchan ; GUO, Xinyin ; XUE, Anwei ; RUAN, Yuanyuan ; WANG, Hongshan ; GAO, Xiaodong: High intratumoral expression of eIF4A1 promotes epithelial-to-mesenchymal transition and predicts unfavorable prognosis in gastric cancer. In: *Acta biochimica et biophysica Sinica* (2020)
- [84] LI, B. D. ; LIU, L. ; DAWSON, M. ; BENEDETTI, A. de: Overexpression of eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E) in breast carcinoma. In: *Cancer* 79 (1997), Nr. 12, S. 2385–2390
- [85] NOSKE: Activation of mTOR in a subgroup of ovarian carcinomas: Correlation with p-eIF-4E and prognosis. In: *Oncology Reports* (2008)
- [86] ROSENWALD, I. B. ; CHEN, J. J. ; WANG, S. ; SAVAS, L. ; LONDON, I. M. ; PULLMAN, J.: Upregulation of protein synthesis initiation factor eIF-4E is an early event during colon carcinogenesis. In: *Oncogene* 18 (1999), Nr. 15, S. 2507–2517
- [87] SORRELLS, Donald L. ; GHALI, Ghali E. ; BENEDETTI, Arrigo de ; NATHAN, Cherie-Ann ; LI, Benjamin D.L: Progressive amplification and overexpression of the eukaryotic initiation factor 4E gene in different zones of head and neck cancers. In: *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 57 (1999), Nr. 3, S. 294–299
- [88] WANG, S. ; ROSENWALD, I. B. ; HUTZLER, M. J. ; PIHAN, G. A. ; SAVAS, L. ; CHEN, J. J. ; WODA, B. A.: Expression of the eukaryotic translation initiation factors 4E and 2alpha in non-Hodgkin's lymphomas. In: *The American journal of pathology* 155 (1999), Nr. 1, S. 247–255
- [89] LAZARIS-KARATZAS, A. ; SMITH, M. R. ; FREDERICKSON, R. M. ; JARAMILLO, M. L. ; LIU, Y. L. ; KUNG, H. F. ; SONENBERG, N.: Ras mediates translation initiation factor 4E-induced malignant transformation. In: *Genes & development* 6 (1992), Nr. 9, S. 1631–1642
- [90] TU, Luxia ; LIU, Zhen ; HE, Xiufang ; HE, Ying ; YANG, Huiling ; JIANG, Qingping ; XIE, Siming ; XIAO, Guanghui ; LI, Xin ; YAO, Kaitai ; FANG, Weiyi: Over-expression of eukaryotic translation initiation factor 4 gamma 1 correlates with tumor progression and poor prognosis in nasopharyngeal carcinoma. In: *Molecular cancer* 9 (2010), S. 78
- [91] COMTESSE, Nicole ; KELLER, Andreas ; DIESINGER, Isabel ; BAUER, Christine ; KAYSER, Klaus ; HUWER, Hanno ; LENHOF, Hans-Peter ; MEESE, Eckart: Frequent overexpression of the genes

- FXR1, CLAPM1 and EIF4G located on amplicon 3q26-27 in squamous cell carcinoma of the lung. In: *International journal of cancer* 120 (2007), Nr. 12, S. 2538–2544
- [92] ALI, Muhammad Umar ; UR RAHMAN, Muhammad Saif ; JIA, Zhenyu ; JIANG, Cao: Eukaryotic translation initiation factors and cancer. In: *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine* 39 (2017), Nr. 6, 1010428317709805
- [93] CLEMENT, Paul M. J. ; HENDERSON, C. Allen ; JENKINS, Zandra A. ; SMIT-MCBRIDE, Zeljka ; WOLFF, Edith C. ; HERSHEY, John W. B. ; PARK, Myung Hee ; JOHANSSON, Hans E.: Identification and characterization of eukaryotic initiation factor 5A-2. In: *European journal of biochemistry* 270 (2003), Nr. 21, S. 4254–4263
- [94] RUNA, Farhana ; ADAMIAN, Yvess ; KELBER, Jonathan A.: Ascending the PEAK1 toward targeting TGF β during cancer progression: Recent advances and future perspectives. In: *Cancer cell & microenvironment* 3 (2016), Nr. 1
- [95] JENNINGS, Martin D. ; PAVITT, Graham D.: eIF5 has GDI activity necessary for translational control by eIF2 phosphorylation. In: *Nature* 465 (2010), Nr. 7296, S. 378–381
- [96] YANG, Guo-Fen ; XIE, Dan ; LIU, Ji-Hong ; LUO, Jun-Hang ; LI, Li-Juan ; HUA, Wen-Feng ; WU, Hong-Mei ; KUNG, Hsiang-Fu ; ZENG, Yi-Xin ; GUAN, Xin-Yuan: Expression and amplification of eIF-5A2 in human epithelial ovarian tumors and overexpression of EIF-5A2 is a new independent predictor of outcome in patients with ovarian carcinoma. In: *Gynecologic oncology* 112 (2009), Nr. 2, S. 314–318
- [97] F LAM, Francis ; JANKOVA, Lucy ; DENT, Owen F. ; MOLLOY, Mark P. ; KWUN, Sun Young ; CLARKE, Candice ; CHAPUIS, Pierre ; ROBERTSON, Graham ; BEALE, Philip ; CLARKE, Stephen ; BOKEY, E. Les ; CHAN, Charles: Identification of distinctive protein expression patterns in colorectal adenoma. In: *Proteomics. Clinical applications* 4 (2010), Nr. 1, S. 60–70
- [98] SHEK, Felix H. ; FATIMA, Sarwat ; LEE, Nikki P.: Implications of the Use of Eukaryotic Translation Initiation Factor 5A (eIF5A) for Prognosis and Treatment of Hepatocellular Carcinoma. In: *International journal of hepatology* 2012 (2012), S. 760928
- [99] WANG, Zhen-Guang ; ZHENG, Hao ; GAO, Wei ; HAN, Jun ; CAO, Jing-Zhu ; YANG, Yuan ; LI, Shuai ; GAO, Rong ; LIU, Hui ; PAN, Ze-Ya ; FU, Si-Yuan ; GU, Fang-Ming ; XING, Hao ; NI, Jun-Sheng ; YAN, Hong-Li ; REN, Hao ; ZHOU, Wei-Ping: eIF5B increases ASAP1 expression to promote HCC proliferation and invasion. In: *Oncotarget* 7 (2016), Nr. 38, S. 62327–62339
- [100] MILUZIO, Annarita ; BEUGNET, Anne ; VOLTA, Viviana ; BIFFO, Stefano: Eukaryotic initiation factor 6 mediates a continuum between 60S ribosome biogenesis and translation. In: *EMBO reports* 10 (2009), Nr. 5, S. 459–465
- [101] VALENZUELA, D. M. ; CHAUDHURI, A. ; MAITRA, U.: Eukaryotic ribosomal subunit anti-association activity of calf liver is contained in a single polypeptide chain protein of Mr = 25,500 (eukaryotic initiation factor 6). In: *The Journal of biological chemistry* 257 (1982), Nr. 13, S. 7712–7719

- [102] GANDIN, Valentina ; MILUZIO, Annarita ; BARBIERI, Anna Maria ; BEUGNET, Anne ; KIYOKAWA, Hiroaki ; MARCHISIO, Pier Carlo ; BIFFO, Stefano: Eukaryotic initiation factor 6 is rate-limiting in translation, growth and transformation. In: *Nature* 455 (2008), Nr. 7213, S. 684–688
- [103] CECI, Marcello ; GAVIRAGHI, Cristina ; GORRINI, Chiara ; SALA, Leonardo A. ; OFFENHÄUSER, Nina ; MARCHISIO, Pier Carlo ; BIFFO, Stefano: Release of eIF6 (p27BBP) from the 60S subunit allows 80S ribosome assembly. In: *Nature* 426 (2003), Nr. 6966, S. 579–584
- [104] CHENDRIMADA, Thimmaiah P. ; FINN, Kenneth J. ; Ji, Xinjun ; BAILLAT, David ; GREGORY, Richard I. ; LIEBHABER, Stephen A. ; PASQUINELLI, Amy E. ; SHIEKHATTAR, Ramin: MicroRNA silencing through RISC recruitment of eIF6. In: *Nature <London>* 447 (2007), Nr. 7146, S. 823–828. URL <http://dx.doi.org/10.1038/nature05841>
- [105] FLAVIN, Richard J. ; SMYTH, Paul C. ; FINN, Stephen P. ; LAIOS, Alexandros ; O'TOOLE, Sharon A. ; BARRETT, Ciara ; RING, Martina ; DENNING, Karen M. ; LI, Jinghuan ; AHERNE, Sinead T. ; AZIZ, Natasha A. ; ALHADI, Araibi ; SHEPPARD, Brian L. ; LODA, Massimo ; MARTIN, Cara ; SHEILS, Orla M. ; O'LEARY, John J.: Altered eIF6 and Dicer expression is associated with clinicopathological features in ovarian serous carcinoma patients. In: *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 21 (2008), Nr. 6, S. 676–684
- [106] SANVITO, F. ; VIVOLI, F. ; GAMBINI, S. ; SANTAMBROGIO, G. ; CATENA, M. ; VIALE, E. ; VEGLIA, F. ; DONADINI, A. ; BIFFO, S. ; MARCHISIO, P. C.: Expression of a highly conserved protein, p27BBP, during the progression of human colorectal cancer. In: *Cancer research* 60 (2000), Nr. 3, S. 510–516
- [107] HARRIS, Michael N. ; OZPOLAT, Bulent ; ABDI, Fadi ; GU, Sheng ; LEGLER, Allison ; MAWUENYEGA, Kwasi G. ; TIRADO-GOMEZ, Maribel ; LOPEZ-BERESTEIN, Gabriel ; CHEN, Xian: Comparative proteomic analysis of all-trans-retinoic acid treatment reveals systematic posttranscriptional control mechanisms in acute promyelocytic leukemia. In: *Blood* 104 (2004), Nr. 5, S. 1314–1323
- [108] ROSSO, Paola ; CORTESINA, Giorgio ; SANVITO, Francesca ; DONADINI, Alessandra ; DI BENEDETTO, Barbara ; BIFFO, Stefano ; MARCHISIO, Pier Carlo: Overexpression of p27BBP in head and neck carcinomas and their lymph node metastases. In: *Head & neck* 26 (2004), Nr. 5, S. 408–417
- [109] GOLOB-SCHWARZL, Nicole ; WODLEJ, Christina ; KLEINEGGER, Florian ; GOGG-KAMERER, Margit ; BIRKL-TOEGLHOFER, Anna Maria ; PETZOLD, Johannes ; AIGELSREITER, Ariane ; THALHAMMER, Michael ; PARK, Young Nyun ; HAYBAECK, Johannes: Eukaryotic translation initiation factor 6 overexpression plays a major role in the translational control of gallbladder cancer. In: *Journal of cancer research and clinical oncology* 145 (2019), Nr. 11, S. 2699–2711
- [110] MARTÍN, Berta ; SANZ, Rebeca ; ARAGÜÉS, Ramón ; OLIVA, Baldo ; SIERRA, Angels: Functional clustering of metastasis proteins describes plastic adaptation resources of breast-cancer

- cells to new microenvironments. In: *Journal of proteome research* 7 (2008), Nr. 8, S. 3242–3253
- [111] IGNATOV, Tanja ; MODL, Saskia ; THULIG, Maike ; WEIßENBORN, Christine ; TREECK, Oliver ; ORTMANN, Olaf ; ZENCLUSSEN, Ac ; COSTA, Serban Dan ; KALINSKI, Thomas ; IGNATOV, Atanas: GPER-1 acts as a tumor suppressor in ovarian cancer. In: *Journal of ovarian research* 6 (2013), Nr. 1, S. 51
- [112] BATTIFORA, H.: The multitumor (sausage) tissue block: novel method for immunohistochemical antibody testing. In: *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* 55 (1986), Nr. 2, S. 244–248
- [113] NOCITO, A. ; KONONEN, J. ; KALLIONIEMI, O. P. ; SAUTER, G.: Tissue microarrays (TMAs) for high-throughput molecular pathology research. In: *International journal of cancer* 94 (2001), Nr. 1, S. 1–5
- [114] KAMPF, Caroline ; OLSSON, Ingmarie ; RYBERG, Urban ; SJÖSTEDT, Evelina ; PONTÉN, Fredrik: Production of tissue microarrays, immunohistochemistry staining and digitalization within the human protein atlas. In: *Journal of visualized experiments : JoVE* (2012), Nr. 63
- [115] OBERLÄNDER, M. ; ALKEMADE, H. ; BÜNGER, S. ; ERNST, F. ; THORNS, C. ; BRAUNSCHWEIG, T. ; HABERMANN, J. K.: A 'waterfall' transfer-based workflow for improved quality of tissue microarray construction and processing in breast cancer research. In: *Pathology oncology research : POR* 20 (2014), Nr. 3, S. 719–726
- [116] LANG, Gudrun: *Histotechnik : Praxislehrbuch für die biomedizinische Analytik*. Zweite, überarbeitete und aktualisierte Auflage. Vienna : Springer, 2013
- [117] ROBERT-KOCH-INSTITUT; GESELLSCHAFT DER EPIDEMIOLOGISCHEN KREBSREGISTER IN DEUTSCHLAND: *Krebs in Deutschland 2011/2012*. 10. Ausg. Berlin, 2015 (Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes)
- [118] BROWN, Alistair J. P. (Hrsg.); TUIE, Mick F. (Hrsg.); MCCARTHY, John E. G. (Hrsg.): *Protein Synthesis and Targeting in Yeast*. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 1993
- [119] GUAN, X. Y. ; SHAM, J. S. ; TANG, T. C. ; FANG, Y. ; HUO, K. K. ; YANG, J. M.: Isolation of a novel candidate oncogene within a frequently amplified region at 3q26 in ovarian cancer. In: *Cancer research* 61 (2001), Nr. 9, S. 3806–3809
- [120] NIELSEN, Klaus H. ; BEHRENS, Manja A. ; HE, Yangzi ; OLIVEIRA, Cristiano L. P. ; JENSEN, Lars Sottrup ; HOFFMANN, Søren V. ; PEDERSEN, Jan S. ; ANDERSEN, Gregers R.: Synergistic activation of eIF4A by eIF4B and eIF4G. In: *Nucleic acids research* 39 (2011), Nr. 7, S. 2678–2689
- [121] SHAHBAZIAN, David ; PARSYAN, Armen ; PETROULAKIS, Emmanuel ; HERSHEY, John ; SONENBERG, Nahum: eIF4B controls survival and proliferation and is regulated by proto-oncogenic signaling pathways. In: *Cell cycle (Georgetown, Tex.)* 9 (2010), Nr. 20, S. 4106–4109

- [122] CHEN, Ke ; YANG, Jianling ; LI, Jianning ; WANG, Xuefei ; CHEN, Yuhai ; HUANG, Shile ; CHEN, Ji-Long: eIF4B is a convergent target and critical effector of oncogenic Pim and PI3K/Akt/mTOR signaling pathways in Abl transformants. In: *Oncotarget* 7 (2016), Nr. 9, S. 10073–10089
- [123] GOLOB-SCHWARZL, Nicole ; KRASSNIG, Stefanie ; TOEGLHOFER, Anna M. ; PARK, Young Nyun ; GOGG-KAMERER, Margit ; VIERLINGER, Klemens ; SCHRÖDER, Fabian ; RHEE, Hyungjn ; SCHICHO, Rudolf ; FICKERT, Peter ; HAYBAECK, Johannes: New liver cancer biomarkers: PI3K/AKT/mTOR pathway members and eukaryotic translation initiation factors. In: *European journal of cancer* (Oxford, England : 1990) 83 (2017), S. 56–70
- [124] ROSS, Joseph A. ; DUNGEN, Keiran Vanden ; BRESSLER, Kamiko R. ; FREDRIKSEN, Mikayla ; KHANDIGE SHARMA, Divya ; BALASINGAM, Nirujah ; THAKOR, Nehal: Eukaryotic initiation factor 5B (eIF5B) provides a critical cell survival switch to glioblastoma cells via regulation of apoptosis. In: *Cell death & disease* 10 (2019), Nr. 2, S. 57
- [125] LEE, Sooncheol ; TRUESDELL, Samuel S. ; BUKHARI, Syed I. A. ; LEE, Ju Huck ; LETONQUEZE, Olivier ; VASUDEVAN, Shobha: Upregulation of eIF5B controls cell-cycle arrest and specific developmental stages. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111 (2014), Nr. 41, E4315-22
- [126] KASTAN, M. B. ; ONYEKWERE, O. ; SIDRANSKY, D. ; VOGELSTEIN, B. ; CRAIG, R. W.: Participation of p53 protein in the cellular response to DNA damage. In: *Cancer research* 51 (1991), 23 Pt 1, S. 6304–6311
- [127] TANNER, M. M. ; GRENMAN, S. ; KOUL, A. ; JOHANSSON, O. ; MELTZER, P. ; PEJOVIC, T. ; BORG, A. ; ISOLA, J. J.: Frequent amplification of chromosomal region 20q12-q13 in ovarian cancer. In: *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 6 (2000), Nr. 5, S. 1833–1839
- [128] DONADINI, Alessandra ; GIACOPELLI, Francesca ; RAVAZZOLO, Roberto ; GANDIN, Valentina ; MARCHISIO, Pier Carlo ; BIFFO, Stefano: GABP complex regulates transcription of eIF6 (p27BBP), an essential trans-acting factor in ribosome biogenesis. In: *FEBS letters* 580 (2006), Nr. 8, S. 1983–1987
- [129] BENELLI, Dario ; CIALFI, Samantha ; PINZAGLIA, Michela ; TALORA, Claudio ; LONDEI, Paola: The translation factor eIF6 is a Notch-dependent regulator of cell migration and invasion. In: *PloS one* 7 (2012), Nr. 2, e32047
- [130] SHAHBAZIAN, David ; PARSYAN, Armen ; PETROULAKIS, Emmanuel ; TOPISIROVIC, Ivan ; MARTINEAU, Yvan ; GIBBS, Bernard F. ; SVITKIN, Yuri ; SONENBERG, Nahum: Control of cell survival and proliferation by mammalian eukaryotic initiation factor 4B. In: *Molecular and cellular biology* 30 (2010), Nr. 6, S. 1478–1485
- [131] HO, E. S. ; LAI, C. R. ; HSIEH, Y. T. ; CHEN, J. T. ; LIN, A. J. ; HUNG, M. H. ; LIU, F. S.: p53 mutation is infrequent in clear cell carcinoma of the ovary. In: *Gynecologic oncology* 80 (2001), Nr. 2, S. 189–193

7 Anhang

7.1 Ehrenerklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

**Immunhistochemische Untersuchung der eukaryotischen Initiationsfaktoren 4-6 in
Neoplasien des Ovars**

im Institut für Pathologie der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität
Magdeburg

mit Unterstützung durch Privatdozent Dr. rer. nat. Norbert Nass

ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Bei der Abfassung der Dissertation sind Rechte Dritter nicht verletzt worden.

Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Ich übertrage der Medizinischen Fakultät das Recht, weitere Kopien meiner Dissertation herzustellen und zu vertreiben.

Magdeburg, den 18.12.2021

Baban Alan Sharif

7.2 Danksagung

Die Danksagung ist in der Version aus Datenschutzgründen nicht enthalten.

7.3 Lebenslauf

Der Lebenslauf ist in der Version aus Datenschutzgründen nicht enthalten.