

Aus der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe  
Campus Großhadern  
Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München



## **Molekulare Mechanismen der Therapieresistenz beim Ovarialkarzinom**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von  
Susann Daniela Badmann

aus  
München

im Jahr  
2023

---

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Erster Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. Udo Jeschke

Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Fabian Trillsch

Dritter Gutachter: Prof. Dr. Christian Schindlbeck

ggf. weitere Gutachter:

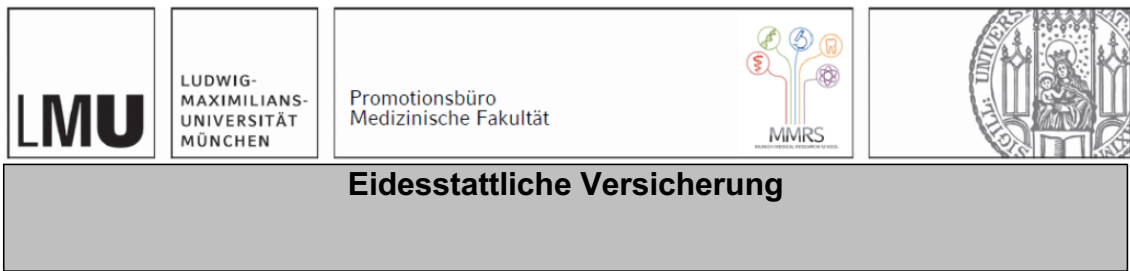
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: PD Dr. med. Bastian Czogalla

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 17.02.2023

## Affidavit



Badmann, Susann Daniela

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

### **Molekulare Mechanismen der Therapieresistenz beim Ovarialkarzinom**

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Augsburg, 21.02.2023

Ort, Datum

Susann Daniela Badmann

Unterschrift Doktorandin Susann Daniela Badmann

## Inhaltsverzeichnis

<b>Affidavit</b> .....	<b>3</b>
<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>4</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>5</b>
<b>Publikationsliste</b> .....	<b>6</b>
<b>1. Beitrag zu den Veröffentlichungen</b> .....	<b>7</b>
1.1 Beitrag zu Publikation I .....	7
1.2 Beitrag zu Publikation II .....	8
<b>2. Einleitung</b> .....	<b>9</b>
2.1 Epidemiologie und Ätiologie des Ovarialkarzinoms .....	9
2.2 Histologie und Pathogenese des Ovarialkarzinoms .....	10
2.3 Klinik, Diagnostik und Stadien des Ovarialkarzinoms .....	11
2.4 Primärtherapie des Ovarialkarzinoms .....	13
2.5 Prognose und Rezidivkrankung beim Ovarialkarzinom.....	14
2.6 Mechanismen der Therapieresistenz beim Ovarialkarzinom.....	16
2.7 Zielsetzung der Arbeit .....	19
<b>3. Zusammenfassung</b> .....	<b>21</b>
<b>4. Abstract (English)</b> .....	<b>24</b>
<b>5. Literaturverzeichnis</b> .....	<b>26</b>
<b>Danksagung</b> .....	<b>34</b>

## Abkürzungsverzeichnis

AKR1C1/2	Aldo-Keto-Reduktase-Familie 1 Mitglied C1 und 2
BRAF	B-Rapidly Accelerating Fibrosarcoma-Gen
BRCA1/2	Breast Cancer Gen 1 und 2
DNA	Desoxyribonukleinsäure
FIGO	Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique
IRS	Immunreaktiver Score
KRAS	Kirsten rat sarcoma-Gen
MDR1	Multidrug Resistance Protein 1, P-Glykoprotein
NFE2L2/NRF2	Nuclear factor erythroid 2-related Faktor 2
OS	Gesamtüberleben
PARP	Poly-ADP-Ribose-Polymerase
PD	Privatdozent
PFS	Progressionsfreies Überleben
siRNA	Small interfering Ribonukleinsäure
TNM	Tumorausbreitung, Lymphknotenbefall und Metastasen
TP53/p53	Tumor Protein p53
UICC	Union for International Cancer Control

## Publikationsliste

Bei der vorliegenden Dissertation handelt es sich um eine kumulative Arbeit auf Grundlage der folgenden Publikationen:

### Publikation I:

**M2 Macrophages Infiltrating Epithelial Ovarian Cancer Express MDR1: A Feature That May Account for the Poor Prognosis.**

**Badmann S**, Heublein S, Mayr D, Reischer A, Liao Y, Kolben T, Beyer S, Hester A, Zeder-Goess C, Burges A, Mahner S, Jeschke U, Trillsch F, Czogalla B  
Cells 2020 May; 9(5):E1224.

doi: 10.3390/cells9051224.

### Publikation II:

**AKR1C1/2 inhibition by MPA sensitizes platinum resistant ovarian cancer towards carboplatin.**

**Badmann S**, Mayr D, Schmoeckel E, Hester A, Buschmann C, Beyer S, Kolben T, Kraus F, Chelariu-Raicu A, Burges A, Mahner S, Jeschke U, Trillsch F, Czogalla B

Sci Rep. 2022 Feb 3;12(1):1862.

doi: 10.1038/s41598-022-05785-9.

# 1. Beitrag zu den Veröffentlichungen

## 1.1 Beitrag zu Publikation I

Im Rahmen ihrer Dissertation führte Susann Badmann eine umfassende Literaturrecherche zum Thema Therapieresistenz beim Ovarialkarzinom durch. Susann Badmann konzipierte die wissenschaftliche Studie in Absprache mit Prof. Dr. rer. nat. Udo Jeschke, PD Dr. med. Bastian Czogalla, Prof. Dr. med. Fabian Trillsch und Prof. Dr. med. Sven Mahner. Insbesondere formulierte Susann Badmann die Hypothese und plante die Experimente der Studie mit Unterstützung von PD Dr. med. Bastian Czogalla. Als Hauptuntersucherin führte Susann Badmann die Experimente der Studie (immunhistochemische Färbungen von Tissue-Microarrays zur Untersuchung der MDR1 Expression in Gewebeproben von Patientinnen mit Ovarialkarzinom und Immunfluoreszenzfärbungen ausgewählter Marker zur Identifikation der MDR1 exprimierenden Leukozytensubpopulation) durch und wertete diese mikroskopisch aus. Prof. Dr. med. Doris Mayr beteiligte sich an der histologischen Auswertung der Gewebeproben. PD Dr. rer. nat. Dr. med. Sabine Heublein wirkte bei der Auswahl geeigneter Marker für Immunfluoreszenzfärbungen mit. Die statistische Auswertung der erhobenen Daten sowie die Darstellung und Interpretation der Ergebnisse erfolgte hauptsächlich durch Susann Badmann. Alle Autoren beteiligten sich an der Diskussion der wissenschaftlichen Ergebnisse.

Publikation I wurde am 15.05.2020 im international anerkannten Journal *Cells* veröffentlicht. Susann Badmann verfasste die ursprüngliche Version der Publikation und überarbeitete diese im Publikationsprozess anhand der Kommentare von Koautoren und Reviewern unter Mithilfe von PD Dr. med. Bastian Czogalla. Außerdem präsentierte Susann Badmann die Arbeit am 22.02.2020 als Poster auf dem Deutschen Krebs Kongress 2020 in Berlin.

## 1.2 Beitrag zu Publikation II

Design und Koordination dieser Studie wurden von Susann Badmann mit Unterstützung durch PD Dr. med. Bastian Czogalla, Prof. Dr. rer. nat. Udo Jeschke und Prof. Dr. med. Fabian Trillsch ausgeführt. Eine umfassende Literaturrecherche sowie die Planung und Durchführung der Experimente (Analyse der Expression von AKR1C1/2 in Ovarialkarzinomgewebe durch immunhistochemische Färbungen von Tissue Microarrays, in vitro Genexpressionsanalyse von NRF2 und AKR1C1/2 verschiedener Ovarialkarzinomzelllinien mittels qPCR und Western Blot sowie funktionelle Assays zur Untersuchung therapeutischer Effekte von Carboplatin und MPA auf platinresistente Ovarialkarzinomzellen) erfolgten vorrangig durch Susann Badmann. An der immunhistochemischen Analyse der Gewebeproben beteiligten sich Prof. Dr. med. Doris Mayr und PD Dr. med. Elisa Schmoeckel. Auswertung und statistische Analyse der Daten sowie Visualisierung und Interpretation der Ergebnisse erfolgten durch Susann Badmann. Beratend begleitete PD Dr. med. Bastian Czogalla den experimentellen Teil der Studie sowie die Auswertung der Daten. Alle Autoren beteiligten sich an der Diskussion und Interpretation der wissenschaftlichen Ergebnisse.

Publikation II wurde am 03.02.2022 im international anerkannten Journal *Scientific Reports* veröffentlicht. Susann Badmann erstellte die Rohfassung des Manuskripts und überarbeitete diese mithilfe des Inputs von Koautoren und Reviewern. Ein Online-Poster zum gleichen Thema wurde auf der Tagung der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe 2020 vorgestellt.



## 2. Einleitung

### 2.1 Epidemiologie und Ätiologie des Ovarialkarzinoms

Weltweit handelt es sich beim Ovarialkarzinom nach dem Zervix- und Endometriumkarzinom um das dritthäufigste Genitalmalignom der Frau (1). In Deutschland erkrankten im Jahr 2018 7.300 Frauen an einem Ovarialkarzinom. Mit 5,1% der weiblichen Krebstoten gehört das Ovarialkarzinom hierzulande zu den fünf letalsten Tumorentitäten bei Frauen. Da etwa 75% der Diagnosen erst im fortgeschrittenen Stadium gestellt werden, beträgt die relative 5-Jahres Überlebensrate derzeit nur 42% (2). Früherkennungsprogramme durch transvaginalen Ultraschall oder Tumormarkerbestimmung konnten bisher keinen positiven Effekt auf die Überlebensrate zeigen (3). Dennoch sind Erkrankungs- und Sterberaten in Deutschland seit der Jahrtausendwende rückläufig (2).

Das Risiko, an einem Ovarialkarzinom zu erkranken, steigt mit zunehmendem Alter bis zum 85. Lebensjahr kontinuierlich an. Der Median des Erkrankungsalters liegt aktuell bei 69 Jahren (2). Keimzelltumoren oder familiäre Formen des epithelialen Ovarialkarzinoms treten oft schon vor dem 45. Lebensjahr auf (3). Als wichtigste hereditäre Risikofaktoren sind Keimbahnmutationen in den Genen *BRCA1* und *BRCA2* zu nennen, die mit einem erhöhten Lebenszeitrisiko für ein Ovarialkarzinom einhergehen. Darüber hinaus sind weitere, seltenere Risikogene bekannt. Insgesamt lassen sich in circa 26% der Fälle Mutationen in solchen Risikogenen identifizieren (4). Auch in Familien mit hereditärem, nicht-polypösem Kolonkarzinom ist das Risiko für ein Ovarialkarzinom erhöht (5). Des Weiteren nehmen hormonelle Faktoren Einfluss auf die Entwicklung eines Ovarialkarzinoms. Während Infertilität, Adipositas und eine postmenopausale Hormonersatztherapie das Risiko steigern, gelten viele Geburten, lange Stillzeiten, die Einnahme oraler Kontrazeptiva und eine Sterilisation durch Tubenligatur als protektiv (6-10). Bei entsprechend nachgewiesener Asbestexposition kann das Ovarialkarzinom auch als Berufserkrankung anerkannt werden (11).

## 2.2 Histologie und Pathogenese des Ovarialkarzinoms

Mehr als 90% aller ovariellen Malignome sind epithelialen Ursprungs. Während diese früher als eine Entität aufgefasst wurden, werden heute anhand histopathologischer und molekulargenetischer Faktoren fünf Subtypen unterschieden: high-grade serös (70%), endometrioid (10%), klarzellig (10%), low-grade serös (<5%) und muzinös (3-4%) (12). Der Fokus dieser Arbeit liegt auf der Untersuchung des high-grade serösen Ovarialkarzinoms, dem mit Abstand häufigsten Subtyp, welcher durch seine Aggressivität maßgeblich zur hohen Letalität der Erkrankung beiträgt (13).

Auch in Karzinogenese und klinischer Präsentation unterscheiden sich die Subtypen (12). Auf Basis dieser Erkenntnisse wurde ein dualistisches Modell etabliert, das Ovarialkarzinome in Typ I und II Tumoren einteilt (14). Die unter Typ I zusammengefassten Karzinome (endometrioid, klarzellig, low-grade serös und muzinös) sind bei Diagnosestellung meist noch aufs Ovar begrenzt. Sie entwickeln sich schrittweise aus Vorläuferläsionen und weisen im Vergleich zu Typ II Tumoren eine höhere genetische Stabilität auf (15). Häufig führen Alterationen zellulärer Signalwege zum Beispiel durch Mutationen in den Onkogenen *BRAF* und *KRAS* beim low-grade serösen Ovarialkarzinom zur malignen Transformation (13). Bei Typ II Tumoren, zu denen neben undifferenzierten Karzinomen und Karzinosarkomen das high-grade seröse Ovarialkarzinom zählt, lässt sich meist eine Mutation im Tumorsuppressorgen *TP53* nachweisen. Häufig tragen außerdem Mutationen in den Genen *BRCA1* und *2* zur genetischen Instabilität bei (14). Man geht davon aus, dass sich high-grade seröse Ovarialkarzinome ausgehend von serösen intraepithelialen Karzinomen der Tuben entwickeln (13). Aufgrund eines aggressiven Wachstums mit hoher Proliferationsrate werden diese Tumoren meist erst im fortgeschrittenen Stadium diagnostiziert und haben mit einem 5-Jahres Überleben von circa 30% eine schlechte Prognose (14). Kritik am Modell besteht vor allem darin, dass es sich beim Ovarialkarzinom trotz beschriebener Gemeinsamkeiten von Typ I und Typ II Tumoren um eine sehr heterogene Erkrankung handelt, was bei Diagnostik und Therapieplanung beachtet werden sollte (12).

### 2.3 Klinik, Diagnostik und Stadien des Ovarialkarzinoms

Das Ovarialkarzinom zeigt keine Frühsymptome, weshalb die Diagnosestellung meist erst in fortgeschrittenen Stadien erfolgt. Eine Kombination anhaltender unspezifischer abdomineller Beschwerden wie Völlegefühl, Blähungen, Schmerzen und Bauchumfangvermehrung sowie eine erhöhte Miktionsfrequenz können auf ein Ovarialkarzinom hinweisen und sollten bei Frauen über dem 50. Lebensjahr diagnostisch abgeklärt werden (3, 16). Hierzu erfolgt initial eine gynäkologische Untersuchung sowie transvaginale Sonographie, die gegebenenfalls um weitere bildgebende Verfahren zur Darstellung der ovariellen Raumforderung ergänzt wird. Letztendlich entscheidet jedoch eine diagnostische Laparotomie über Stadieneinteilung und Operabilität des Ovarialkarzinoms (3). Die Stadieneinteilung erfolgt nach der 2014 überarbeiteten FIGO-Klassifikation, welche in Tabelle 1 abgebildet ist. Diese korreliert mit der für das Ovarialkarzinom weniger gängigen TNM-Klassifikation der UICC (17).

**Tabelle 1.** TNM- und FIGO-Klassifikation des Ovarialkarzinoms nach (3).

<b>TNM</b>	<b>FIGO</b>	<b>Definition</b>
<b>Tx</b>		Primärtumor nicht bekannt, keine Angaben möglich
<b>T0</b>		Kein Anhalt für einen Tumor
<b>T1</b>	<b>I</b>	Tumor auf die Ovarien oder Tuben beschränkt
<b>T1a</b>	<b>IA</b>	Auf ein Ovar (Kapsel intakt) oder eine Tube (Serosa intakt) beschränkt, Ovar- oder Tubenoberfläche tumorfrei, negative Spülzytologie
<b>T1b</b>	<b>IB</b>	Befall beider Ovarien (Kapsel intakt) oder beider Tuben (Serosa intakt), Ovar- oder Tubenoberfläche tumorfrei, negative Spülzytologie
<b>T1c</b>	<b>IC</b>	Tumor befällt ein oder beide Ovarien oder Tuben mit Nachweis einer der folgenden Punkte:
<b>T1c1</b>	<b>IC1</b>	Iatrogene Kapsel- (Serosa-)ruptur
<b>T1c2</b>	<b>IC2</b>	Präoperative Kapsel- (Serosa-)ruptur oder Tumor auf der Ovar- oder Tubenoberfläche
<b>T1c3</b>	<b>IC3</b>	Maligne Zellen im Aszites oder in der Spülzytologie nachweisbar

<b>T2</b>	<b>II</b>	Tumor befällt ein oder beide Ovarien oder Tuben mit zytologisch oder histologisch nachgewiesener Ausbreitung in das kleine Becken oder primäres Peritonealkarzinom
<b>T2a</b>	<b>IIA</b>	Ausbreitung und/oder Tumorimplantate auf Uterus und/oder Tuben und/oder Ovarien
<b>T2b</b>	<b>IIB</b>	Ausbreitung auf weitere intraperitoneale Strukturen im Bereich des kleinen Beckens
<b>T3 und/ oder N1</b>	<b>III</b>	Tumor befällt ein oder beide Ovarien oder Tuben oder primäres Peritonealkarzinom mit zytologisch oder histologisch nachgewiesener Ausbreitung außerhalb des kleinen Beckens und/oder retroperitoneale Lymphknotenmetastasen
<b>T3</b>		Nur retroperitoneale Lymphknotenmetastasen
<b>N1a</b>	<b>IIIA1i</b>	Metastasen $\leq 10$ mm
<b>N1b</b>	<b>IIIA1ii</b>	Metastasen $> 10$ mm
<b>T3a jedes N</b>	<b>IIIA2</b>	Mikroskopische extrapelvine Ausbreitung auf das Peritoneum außerhalb des kleinen Beckens mit oder ohne retroperitoneale Lymphknotenmetastasen
<b>T3b jedes N</b>	<b>IIIB</b>	Makroskopische extrapelvine Ausbreitung auf das Peritoneum außerhalb des kleinen Beckens $\leq 2$ cm mit oder ohne retroperitoneale Lymphknotenmetastasen
<b>T3c jedes N</b>	<b>IIIC</b>	Makroskopische extrapelvine Ausbreitung auf das Peritoneum außerhalb des kleinen Beckens $> 2$ cm mit oder ohne retroperitoneale Lymphknotenmetastasen; schließt eine Ausbreitung auf die Leberkapsel und/oder die Milzkapsel ein
<b>M1</b>	<b>IV</b>	Fernmetastasen mit Ausnahme peritonealer Metastasen
<b>M1a</b>	<b>IVA</b>	Pleuraerguss mit positiver Zytologie
<b>M1b</b>	<b>IVB</b>	Parenchymale Metastasen der Leber und/oder der Milz, Metastasen in außerhalb des Abdomens gelegenen Organen (einschließlich inguinaler Lymphknotenmetastasen und/oder anderer außerhalb des Abdomens gelegener Lymphknotenmetastasen)

## 2.4 Primärtherapie des Ovarialkarzinoms

Die stadienabhängige Therapie eines histologisch nachgewiesenen Ovarialkarzinoms umfasst eine Kombination operativer und systemischer Maßnahmen (18). Während bei unilateralem Tumor im Frühstadium (FIGO IA) ein Fertilitäts-erhalt in Absprache mit der Patientin in Erwägung gezogen werden kann, stellt die primäre radikale zytoreduktive Operation in höheren Stadien den wichtigsten therapeutischen Schritt dar (3, 18). Ziel ist dabei die makroskopisch vollständige Resektion, da die Prognose maßgeblich vom postoperativen Tumorrest abhängig ist (19). Für ein optimales Outcome sollte die Operation in einem zertifizierten Zentrum durch gynäkologische Onkologen erfolgen (20).

Im Anschluss an die Operation erhalten Patientinnen mit fortgeschrittenem Ovarialkarzinom (FIGO II-IV) derzeit eine Chemotherapie bestehend aus 6 Zyklen Carboplatin und Paclitaxel (3, 21). Diese wird ab dem Stadium FIGO III um zielgerichtete Erhaltungstherapien ergänzt (3). Der zusätzliche Einsatz des Angiogenese-Hemmers Bevacizumab parallel zur Chemotherapie und als Erhaltungstherapie für insgesamt 15 Monate verlängert das progressionsfreie Überleben (PFS) betroffener Patientinnen signifikant (22, 23). Noch größere Erfolge in der Therapie des Ovarialkarzinoms erbrachte die Zulassung von Poly-ADP-Ribose-Polymerase (PARP)-Inhibitoren als Erhaltungstherapie in den letzten Jahren, die zunächst für Patientinnen mit BRCA1/2-mutiertem high-grade serösem Ovarialkarzinom und Ansprechen auf eine platinbasierte Erstlinientherapie erfolgte. In diesem Kollektiv reduziert eine Erhaltungstherapie mit Olaparib das Risiko für Krankheitsprogression oder Tod gegenüber Placebo um insgesamt 70% (24). Niraparib führt unabhängig vom BRCA1/2-Mutationsstatus zu einer Verbesserung des PFS, weshalb dieser PARP-Inhibitor zur Erhaltungstherapie bei Patientinnen mit fortgeschrittenem high-grade serösem Ovarialkarzinom ohne BRCA1/2-Mutation indiziert ist (25). Weiterhin verbessert die Kombination von Olaparib und Bevacizumab in der Erhaltungstherapie insbesondere das PFS von Patientinnen mit nachgewiesener homologer Rekombinations-Defizienz mit und ohne BRCA1/2-Mutation (26).

Im Gegensatz zu anderen soliden Tumorentitäten konnte der Einsatz von Immuntherapien in der Erstlinientherapie des Ovarialkarzinoms bisher keine rele-

vanten Effekte erzielen (27, 28). Aktuelle Studien untersuchen Kombinationen der etablierten systemischen Therapie bestehend aus platinhaltiger Chemotherapie mit Bevacizumab und PARP-Inhibitoren in der Erhaltungstherapie und Checkpoint-Inhibitoren (29). Ob diese durch synergistische Effekte zu einem erhöhten Tumoransprechen führen, bleibt abzuwarten.

## **2.5 Prognose und Rezidivkrankung beim Ovarialkarzinom**

Trotz einiger Fortschritte in der Therapie des Ovarialkarzinoms ist die Prognose der Erkrankung mit einem relativen 5-Jahres Überleben von 42% verglichen mit anderen Tumorentitäten weiterhin sehr schlecht (2). Als wichtigster Prognosefaktor gilt neben dem Tumorstadium bei Erstdiagnose (FIGO) der postoperative Tumorrest, der direkt mit dem PFS und dem Gesamtüberleben (OS) korreliert (18, 19). Darüber hinaus beeinflussen pathologische Eigenschaften wie der histologische Subtyp und der Differenzierungsgrad des Tumors die Prognose ebenso wie Alter und Allgemeinzustand der Patientin (30, 31). Auf Ebene der Tumorbiologie wurden zahlreiche weitere Parameter mit prognostischer Relevanz identifiziert (32-35). Bisher konnte sich jedoch keiner dieser molekularen Biomarker als Prädiktor für den individuellen Krankheitsverlauf im klinischen Alltag durchsetzen, da prospektive Studien und eine therapeutische Konsequenz fehlen (3).

Ernüchternd sowohl für betroffene Patientinnen als auch für die behandelnden Ärzte ist die hohe Rezidivrate beim Ovarialkarzinom. Obwohl 60-80% der Patientinnen mit fortgeschrittenem Ovarialkarzinom auf die platinbasierte Erstlinientherapie ansprechen (36), entwickeln mehr als 80% innerhalb kurzer Zeit ein Rezidiv (37). Im Rezidivfall gibt es keine kurativen Therapieoptionen mehr. Neben der Lebensverlängerung rücken Symptomkontrolle und Erhalt der Lebensqualität als Therapieziele in den Vordergrund (38). Wie auch bei der Primärtherapie stehen operative und systemische Maßnahmen je nach Leidensdruck der Patientin und Fortschritt der Erkrankung zur Verfügung (3). Problematisch für die weitere Behandlung ist hierbei, dass fast alle Patientinnen mit high-grade serösem Ovarialkarzinom im Verlauf eine Platinresistenz entwickeln (36).

Die Länge des progressionsfreien Intervalls nach Behandlung mit einer platinhaltigen Chemotherapie beeinflusst nicht nur die Prognose, sondern auch das weitere therapeutische Vorgehen. Die beste Prognose haben Patientinnen, deren progressionsfreies Intervall nach dem Abschluss der Chemotherapie länger als 6 Monate ist (platinsensitiv) (38). Diese erhalten eine erneute platinhaltige Kombinationschemotherapie, an die bei Ansprechen unabhängig vom BRCA1/2-Mutationsstatus eine Erhaltungstherapie mit PARP-Inhibitoren angeschlossen wird (39). Besteht Aussicht auf makroskopische Tumorfreiheit kann eine Rezidivoperation vor der erneuten Systemtherapie das mediane OS um mehr als ein Jahr verlängern (40). Weniger effektive Therapiemöglichkeiten gibt es dagegen bei platinresistenten Rezidiven, die innerhalb von 6 Monaten nach Abschluss der platinhaltigen Erstlinientherapie auftreten. In diesem Fall kommen platinfreie Monochemotherapien zum Einsatz, auf die jedoch weniger als 15% der Patientinnen ansprechen (3, 38). Durch eine Kombination mit Bevacizumab kann das mediane PFS zwar von 3,4 auf 6,7 Monate verlängert werden (41), wichtigere Therapieziele in der platinresistenten Situation sind allerdings Symptomkontrolle und Optimierung der Lebensqualität (3). Obwohl die Strahlentherapie bei disseminierter Erkrankung aufgrund der hohen Toxizität keine geeignete Therapieoption darstellt, kann in ausgewählten Rezidivfällen ein lokalisierter Einsatz zur Symptomkontrolle sinnvoll sein (42, 43).

Die deutsche Leitlinie betont, dass eine Stratifizierung der Rezidivpopulationen ausschließlich anhand des progressionsfreien Intervalls nach platinhaltiger Chemotherapie unzureichend ist und fordert, dass zukünftig weitere Faktoren wie Alter, Allgemeinzustand und Präferenz der Patientin sowie Vortherapien und tumorbiologische Aspekte inklusive BRCA1/2-Mutationsstatus bei der Wahl der Rezidivtherapie berücksichtigt werden (3). Dadurch kann sicherlich die Lebensqualität und gegebenenfalls auch die Prognose betroffener Patientinnen verbessert werden, jedoch sind die Ursachen der Chemoresistenz beim Ovarialkarzinom aktuell noch nicht ausreichend verstanden, um effektive zielgerichtete Therapien anbieten zu können.

## 2.6 Mechanismen der Therapieresistenz beim Ovarialkarzinom

Im Allgemeinen wird davon ausgegangen, dass eine Kombination mehrerer molekularer Mechanismen zur Chemoresistenz von malignen Tumoren führt. Neben verminderter Aufnahme und vermehrtem Ausschleusen der Chemotherapeutika, sind die Tumorzellen durch molekulare Alterationen häufig in der Lage den zytotoxischen Effekt der Chemotherapeutika abzuschwächen oder zu tolerieren (44, 45). Während manche Karzinome bereits primär einen resistenten Phänotyp aufweisen, erwerben andere die Resistenz erst im Verlauf (45). Beim Ovarialkarzinom gibt es hierbei Unterschiede zwischen den histologischen Subtypen. Während die selteneren Subtypen klarzellig, muzinös und low-grade serös meist primär platinrefraktär sind, zeigt das high-grade seröse Ovarialkarzinom nach initialem Ansprechen häufig erst sekundär eine Platinresistenz (46). Auch innerhalb dieses Subtyps tritt ein Rezidiv zu unterschiedlichen Zeitpunkten in Bezug zur platinhaltigen Erstlinientherapie auf (38). Die zu Grunde liegenden molekularen Mechanismen der therapieresistenten Rezidive beim Ovarialkarzinom stehen im Fokus des wissenschaftlichen Interesses. Im Folgenden wird insbesondere auf die bekannten Resistenzmechanismen des high-grade serösen Ovarialkarzinoms gegenüber der platinhaltigen Standardchemotherapie eingegangen.

Platinhaltige Zytostatika stellen eine wichtige Substanzklasse in der Therapie solider Tumoren dar (45). Sie interkalieren nach Aufnahme in die Zelle in die DNA, wo es durch Adduktbildung und Quervernetzung im Verlauf zu Einzel- und Doppelstrangbrüchen kommt. Die DNA-Schädigung induziert schließlich die Apoptose und die Zelle stirbt ab (47). Darüber hinaus führen auch mitochondriale Schäden und Stress im endoplasmatischen Retikulum zur Apoptose (46, 48). Eine Resistenz gegenüber platinhaltigen Substanzen entsteht durch eine Vielzahl zellulärer Veränderungen (45). Mehr als 90% der high-grade serösen Ovarialkarzinome zeigen genetische Mutationen im Tumorsuppressorgen *TP53* (49). Als „Wächter des Genoms“ spielt der Transkriptionsfaktor p53 eine zentrale Rolle bei der Induktion von Apoptose aufgrund von DNA-Schäden (50). Ein Funktionsverlust von p53 geht daher mit einer schlechteren Prognose und Resistenz gegenüber platinhaltigen Chemothera-



peutika einher (49-51). Genomsequenzierungen von high-grade serösen Ovarialkarzinomen zeigten außerdem eine Assoziation von genetischen Veränderungen in anderen Tumorsuppressorgenen mit erworbener Chemoresistenz (52). Darüber hinaus können epigenetische Alterationen durch ihren Einfluss auf die Genexpression zur Platinresistenz beitragen (36). Beispielsweise besteht ein Zusammenhang zwischen DNA-Methylierung und somit Inaktivierung bestimmter Loci und verkürztem PFS nach platinhaltiger Chemotherapie (53). Eine bei Krebszellen häufig beobachtete Histondeacetylierung führt ferner zu einer kompakten Chromatinstruktur, sodass DNA-schädigende Substanzen schlechter an ihren Wirkort gelangen (36). Durch eine erhöhte Aktivität von DNA-Reparaturmechanismen können Krebszellen die DNA-Schäden, die durch platinhaltige Zytostatika verursacht werden, rückgängig machen (46). Dieser Resistenzmechanismus erklärt, warum BRCA1/2-Mutationsträgerinnen besser auf platinhaltige Chemotherapeutika ansprechen (54-56). Die homologe Rekombination, bei der BRCA1 und 2 eine wesentliche Rolle spielen, dient der Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen (36). Etwa 50% der high-grade serösen Ovarialkarzinome weisen eine homologe Rekombinations-Defizienz auf - entweder durch *BRCA1/2*-Keimbahnmutationen oder erworben (BRCAness) zum Beispiel durch somatische Mutation oder Gensilencing durch Hypermethylierung des *BRCA1* Promoters oder spezifische microRNAs (36, 46, 57-59). Dadurch kommt es unter platinhaltiger Chemotherapie zur Akkumulation von DNA-Doppelstrangbrüchen und vermehrt zur Apoptose (36). Es gibt Hinweise, dass diese Patientinnen, auch wenn das Rezidiv früher als 6 Monate nach Primärtherapie (platinresistent) auftritt, von einer erneuten platinhaltigen Chemotherapie profitieren könnten (56).

Neben den genannten Mechanismen, die den Zelltod als Folge der DNA-Schädigung verhindern, zielen weitere Mechanismen darauf ab, die Konzentration der zytotoxischen Substanzen in der Zelle zu verringern, sodass es nicht zur DNA-Schädigung kommt (46). Dies geschieht einerseits durch verminderte Aufnahme oder vermehrtes Ausschleusen aus der Zelle (45). Während wenig über die Hemmung der Aufnahme in die Zelle bekannt ist, wurde eine erhöhte Expression verschiedener Effluxtransporter in Zusammenhang mit Platinresistenz beschrieben (44, 45, 47, 60). Andererseits kommt es durch vermehrte Bil-

derung von Glutathion oder andere antioxidative Prozesse zu einer Inaktivierung intrazellulärer Platinderivate (45, 61, 62).

In neueren Modellen wird davon ausgegangen, dass resistente Zellen aus Krebsstammzellen hervorgehen beziehungsweise durch Interaktion der Krebszellen mit der Tumorumgebung entstehen (63). Krebsstammzellen, die nur einen kleinen Teil des Tumors ausmachen, werden im Ruhemodus von Chemotherapien, die insbesondere proliferierende Zellen angreifen, nicht beeinträchtigt und können zu einem späteren Zeitpunkt das Krebswachstum erneut initiieren (36). Passend dazu zeigte sich in chemoresistenten Rezidivtumoren des high-grade serösen Ovarialkarzinoms eine Anreicherung von Krebsstammzellen im Vergleich zum Primärtumor (64). Auch eine Interaktion der Krebszellen mit der Tumorumgebung führt wohl über einen Ruhezustand und weitere genetische Veränderungen zur Chemoresistenz (63). Die unter dem Selektionsdruck der Chemotherapie überlebenden resistenten Zellen überwachsen schließlich die sensitive Tumorzellpopulation (46).

Wie Carboplatin greift auch Paclitaxel proliferierende Zellen an. Durch Bindung an  $\beta$ -Tubulin führt Paclitaxel zu einer Mikrotubulistabilisierung, wodurch es zu einem Zellzyklusarrest in der Metaphase der Mitose und schließlich zur Apoptose kommt (65). Auch unabhängig der Mikrotubulistabilisierung führt Paclitaxel durch Aktivierung proapoptotischer Gene und Signalwege zum Zelltod (66). Darüber hinaus sind für Paclitaxel immunmodulatorische Effekte, eine antiangiogene Wirkung und eine Induktion reaktiver Sauerstoffspezies beschrieben (66-68). Die Resistenzmechanismen gegenüber Paclitaxel sind vielfältig. Als Hauptmechanismen gelten eine Reduktion der intrazellulären Paclitaxel Konzentration durch Effluxtransporter wie MDR1, eine Veränderung der Zielstruktur durch Mutationen von  $\beta$ -Tubulin, Expression anderer Isoformen, posttranslationale Modifikationen oder Mikrotubuli-assoziierte Proteine sowie genetische Alterationen und Veränderungen in Signalwegen (69).

Da Carboplatin und Paclitaxel unterschiedliche Angriffspunkte haben, greifen einige der beschriebenen Resistenzmechanismen nur gegen eines der beiden Standardtherapeutika. Dennoch gibt es vor allem in der Rezidivsituation momentan keine effektive Therapie und es wird deutlich, dass die komplexen Pro-

zesse der Therapieresistenz beim Ovarialkarzinom sehr heterogen und in ihrer Gesamtheit nicht verstanden sind.

## 2.7 Zielsetzung der Arbeit

Therapieresistente Rezidive beim Ovarialkarzinom limitieren die Behandlungsmöglichkeiten und führen zur schlechten Prognose der Erkrankung. Die zu Grunde liegenden molekularen Mechanismen sind komplex und noch nicht ausreichend verstanden. In dieser Dissertation sollen die Ursachen der Therapieresistenz beim Ovarialkarzinom auf molekularer Ebene näher charakterisiert und die zellulären Auswirkungen untersucht werden. Der Fokus dieser Arbeit liegt dabei auf den Proteinen MDR1 und AKR1C1/2. Einige Studien weisen darauf hin, dass diese bei der Entstehung von Chemoresistenz eine entscheidende Rolle spielen könnten:

Bei MDR1 handelt es sich um einen Transporter, der hydrophobe Moleküle wie beispielsweise Chemotherapeutika aus der Zelle schleust (44). Eine erhöhte Expression von MDR1 auf Krebszellen führt zu schlechterem Therapieansprechen und verkürztem Gesamtüberleben, unter anderem beim Ovarialkarzinom (70, 71). Mit der Zeit wurde jedoch deutlich, dass die Chemoresistenz nicht nur durch intrinsische Eigenschaften der Tumorzellen erklärt werden kann, sondern dass auch das Tumormikromilieu entscheidenden Einfluss nimmt (72). Daher untersucht Publikation I die prognostische Bedeutung der MDR1 Expression von tumorinfiltrierenden Immunzellen beim Ovarialkarzinom und charakterisiert die MDR1 positive Leukozytensubpopulation (73).

Vorarbeiten zu Publikation II zeigen, dass das Überleben von Ovarialkarzinompatientinnen vom Aktivierungszustand der NRF2 vermittelten Signalkaskade abhängig ist (74). Dieser Signalweg, der einen zellulären Schutzmechanismus gegen oxidativen Stress darstellt, scheint ebenfalls zur Entwicklung von Chemoresistenz beizutragen (75, 76). Dabei könnten die NRF2 Zielgene *AKR1C1/2* eine zentrale Rolle einnehmen (62, 77). In Publikation II wird der Einfluss einer *AKR1C1/2* Expression im Ovarialkarzinomgewebe in Hinblick auf das Patientinnenüberleben untersucht. Um einen möglichen Effekt von NRF2/*AKR1C1/2* auf die Platinsensibilität von Ovarialkarzinom-Zellen nachzu-

weisen, werden funktionelle Assays an einem platinresistenten Zellkulturmodell durchgeführt, wobei der NRF2/AKR1C1/2 Signalweg entweder durch den AKR1C Inhibitor MPA oder durch *NFE2L2* Silencing gehemmt wird (78).

Die Erkenntnisse dieser Arbeit sollen zum besseren Verständnis der Entstehung von Chemoresistenz beim Ovarialkarzinom beitragen und eine Grundlage für neue therapeutische Ansätze schaffen, um betroffenen Patientinnen in Zukunft bessere Heilungschancen zu ermöglichen beziehungsweise ihr PFS zu verlängern.

### 3. Zusammenfassung

Unter den gynäkologischen Genitalmalignomen ist das Ovarialkarzinom die Erkrankung mit den schlechtesten Heilungschancen und der höchsten Letalität (2). Neben einer späten Diagnosestellung bei unspezifischen Symptomen und fehlenden Früherkennungsprogrammen, trägt hierzu insbesondere die hohe Rezidivrate bei. Die Rezidivtumoren weisen häufig Chemoresistenzen auf (36), sodass aktuell keine effektiven Therapieoptionen zur Verfügung stehen. Einen vielversprechenden Ansatz, um diesen Mangel an Therapieoptionen zukünftig zu überwinden, stellt die personalisierte Medizin dar. Ähnlich wie beim Mammakarzinom, wo bereits heute anhand molekularer Marker und Genexpressionstests individuelle Therapiekonzepte zum Einsatz kommen, könnte eine Identifikation und Adressierung tumorspezifischer Zielstrukturen die Therapie des Ovarialkarzinoms maßgeblich verbessern.

In dieser kumulativen Dissertation wurden molekulare Marker untersucht, deren erhöhte Expression im Tumorgewebe entscheidend zur Entwicklung der Therapieresistenz beiträgt. Durch immunhistochemische Analysen an einem etablierten Kollektiv mit 156 Ovarialkarzinompatientinnen konnte gezeigt werden, dass MDR1 nicht nur auf Tumorzellen selbst (71), sondern auch auf tumorinfiltrierenden Leukozyten mit einem schlechteren PFS und OS assoziiert ist. Eine Charakterisierung der Leukozytensubpopulation zeigte, dass es sich dabei vor allem um protumorale M2-Makrophagen handelt (73). Darüber hinaus wiesen Patientinnen mit AKR1C1/2 Expression im Tumorgewebe im Vergleich zu Patientinnen ohne AKR1C1/2 Expression ein signifikant verkürztes PFS auf (78). Der schlechte Outcome von Patientinnen mit hohem MDR1 positiven Leukozyteninfiltrat beziehungsweise AKR1C1/2 Expression im Tumorgewebe stützt die Hypothese, dass diese Proteine zur Chemoresistenz führen.

Als Transporter, der Medikamente wie zum Beispiel Chemotherapeutika energieabhängig aus der Zelle schleust (44), verleiht MDR1 den protumoralen M2 Makrophagen Überlebensvorteile gegenüber antitumoralen Immunzellsubpopulationen. Insbesondere die Wirkung von Paclitaxel, dem Standardkombinationspartner der platinbasierten Chemotherapie und Substrat von MDR1, welche

neben antiproliferativen Effekten auf Tumorzellen auch die Reprogrammierung von tumorassoziierten M2 Makrophagen in antitumorale M1 Makrophagen umfasst (79), könnte dadurch eingeschränkt sein. Basierend auf diesen Erkenntnissen ist der Einsatz von MDR1-Inhibitoren als Ergänzung zur Standardchemotherapie mit Carboplatin und Paclitaxel ein vielversprechender Ansatz, um deren Wirksamkeit zu erhöhen (73).

Der NRF2/AKR1C1/2 Signalweg beeinflusst vorwiegend die Platinsensitivität von Ovarialkarzinomzellen. Reaktive Sauerstoffspezies, die durch die platinhaltige Chemotherapie entstehen und zum Untergang der Tumorzellen führen sollen, werden nach Induktion des NRF2 vermittelten Signalwegs unter anderem durch die Aldoketoreduktasen AKR1C1/2 entgiftet (62, 80). Passend dazu zeigten Genexpressionsanalysen auf RNA- und Proteinebene, dass platinresistente Ovarialkarzinomzellen eine erhöhte AKR1C1/2 Expression aufweisen. Eine Hemmung von AKR1C1/2 durch MPA reduzierte nicht nur Viabilität und Proliferation der Ovarialkarzinomzellen, sondern erhöhte auch die Wirkung von Carboplatin *in vitro*. *NFE2L2* Silencing durch genspezifische siRNAs führte zu einem vergleichbaren Effekt. Diese Erkenntnisse bestätigen, dass AKR1C1/2 für die Platinresistenz entscheidend ist und eine Kombination der Standardchemotherapie mit MPA die Sensitivität der Tumorzellen gegenüber Carboplatin durch Hemmung von AKR1C1/2 erhöhen kann (78).

Zusammenfassend stellen beide untersuchten Proteine mögliche tumorspezifische Targets dar, um die Therapie des Ovarialkarzinoms in Zukunft wirkungsvoller zu gestalten. Die in dieser Arbeit vorgeschlagenen, zielgerichteten Therapieansätze mit MDR1-Inhibitoren und MPA ergänzen dabei vor allem die etablierte Systemtherapie bestehend aus Carboplatin und Paclitaxel. Durch den spezifischen Wirkmechanismus könnten diese Kombinationstherapien bei geeigneten Patientinnen zu einer Verbesserung der Prognose bei guter Verträglichkeit führen. Ausgehend von diesen präklinischen Erkenntnissen sollte ein potenzieller therapeutischer Nutzen im Rahmen klinischer Studien an größeren Kollektiven verifiziert werden.

Durch die Erkenntnis, dass MDR1 und AKR1C1/2 wichtige molekulare Treiber bei der Entwicklung der Chemoresistenz darstellen und in der Rezidivsituation als zusätzliche therapeutische Zielstrukturen dienen könnten, leistet diese Dis-

sertation einen wertvollen Beitrag, um Therapieresistenzen beim Ovarialkarzinom zukünftig zu überwinden. Dennoch sind weitere Untersuchungen notwendig bis dieser vielschichtige Prozess umfassend verstanden ist und betroffenen Frauen effektivere, zielgerichtete Therapien angeboten werden können. Dabei wird die Berücksichtigung individueller Unterschiede in Pathogenese und Tumorbio­logie in Zukunft sicherlich einen immer höheren Stellenwert einnehmen.

## 4. Abstract (English)

Among gynecologic genital malignancies epithelial ovarian cancer is the most lethal with worse chances of cure (2). Besides late diagnosis due to non-specific symptoms and a lack of screening methods, the high recurrence rate is a major contributing factor. Recurrent tumors often show chemoresistance (36) and therefore currently no effective therapy option exists. Personalized medicine represents a promising approach to overcome this lack of therapy options in the future. Like in breast cancer treatment, where individualized therapy concepts based on molecular markers and gene expression analyses are already successfully applied, identifying and addressing tumor-specific targets could significantly improve of ovarian cancer therapy.

Within this cumulative dissertation, molecular markers were investigated, that are overexpressed in tumor tissue and contribute to the development of therapy resistance. Immunohistochemical analysis of an established ovarian cancer collective with 156 patients demonstrated that elevated MDR1 expression not only on tumor cells themselves (71), but also on tumor infiltrating leukocytes is associated with impaired PFS and OS. By characterization of the leukocyte subpopulation protumoral M2 macrophages were identified as main part of the MDR1 positive immune cell infiltrate (73). Moreover, patients with AKR1C1/2 expression in their tumor tissue had a significantly shorter PFS compared to patients without AKR1C1/2 expression (78). The poor outcome of patients with either high MDR1 positive leukocyte infiltration or AKR1C1/2 expression in their tumor tissue supports the hypothesis that these proteins lead to chemoresistance.

As energy dependent transporter, which removes drugs including chemotherapeutic agents out of the cell (44), MDR1 gives survival advantages to protumoral M2 macrophages compared to antitumoral immune cell subpopulations. This may especially limit the effect of paclitaxel, the standard combination partner of platinum-based chemotherapy and substrate of MDR1, which, in addition to antiproliferative effects on tumor cells, involves reprogramming of tumor-associated M2 macrophages into antitumoral M1 macrophages (79). Based on these findings, the use of MDR1 inhibitors as supplement to the standard



chemotherapy consisting of carboplatin and paclitaxel is a promising approach to increase therapy efficacy (73).

The NRF2/AKR1C1/2 signaling pathway mainly influences platinum sensitivity of ovarian cancer cells. Reactive oxygen species, which are generated by platinum-based chemotherapy and consequently lead to cell death, are detoxified by the aldoketoreductases AKR1C1/2 and others after induction of the NRF2-mediated signaling pathway (62, 80). Consistently, gene expression analyses on RNA and protein level revealed that platinum-resistant ovarian cancer cells showed an increased AKR1C1/2 expression. Inhibition of AKR1C1/2 by MPA not only led to reduced viability and proliferation of ovarian cancer cells, but also to higher efficacy of carboplatin *in vitro*. *NFE2L2* silencing by gene-specific siRNAs had a comparable effect. These findings confirm that AKR1C1/2 is critical for platinum resistance and that a combination of standard chemotherapy with MPA can improve sensitivity of ovarian cancer cells towards carboplatin by inhibiting AKR1C1/2 (78).

In summary, both investigated proteins represent potential tumor-specific targets to boost therapy efficiency in the future. The targeted therapy approaches with MDR1 inhibitors and MPA proposed in this study complement the established system therapy consisting of carboplatin and paclitaxel. With their specific mechanism of action, in suitable patients these combination therapies could lead to an improved prognosis with good tolerability. Based on these preclinical findings a potential therapeutic benefit should be verified in large-scale clinical trials.

By showing that MDR1 and AKR1C1/2 are important molecular drivers in the development of chemoresistance, that could be addressed as additional therapeutic targets in relapsed disease, this dissertation contributes to overcoming therapy resistance of ovarian cancer. However, further studies are needed to fully understand this complex process and to offer affected women more effective, targeted therapies. In this context, the consideration of individual differences in pathogenesis and tumor biology will certainly become more important in the future.

## 5. Literaturverzeichnis

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-49.
2. Erdmann F, Spix C, Katalinic A, Christ M, Folkerts J, Hansmann J, et al. Krebs in Deutschland für 2017/2018. Robert Koch-Institut; 2021. p. 172.
3. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge maligner Ovarialtumoren, Langversion 5.0, 2021, AWMF-Registernummer: 032/035OL. <https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/ovarialkarzinom/>. [abgerufen am 13.01.2022]
4. Harter P, Hauke J, Heitz F, Reuss A, Kommos S, Marme F, et al. Prevalence of deleterious germline variants in risk genes including BRCA1/2 in consecutive ovarian cancer patients (AGO-TR-1). *PLoS One.* 2017;12(10):e0186043.
5. Bonadona V, Bonaiti B, Olschwang S, Grandjouan S, Huiart L, Longy M, et al. Cancer risks associated with germline mutations in MLH1, MSH2, and MSH6 genes in Lynch syndrome. *JAMA.* 2011;305(22):2304-10.
6. Cetin I, Cozzi V, Antonazzo P. Infertility as a cancer risk factor - a review. *Placenta.* 2008;29 Suppl B:169-77.
7. Olsen CM, Green AC, Whiteman DC, Sadeghi S, Kolahdooz F, Webb PM. Obesity and the risk of epithelial ovarian cancer: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer.* 2007;43(4):690-709.
8. Shi LF, Wu Y, Li CY. Hormone therapy and risk of ovarian cancer in postmenopausal women: a systematic review and meta-analysis. *Menopause.* 2016;23(4):417-24.
9. Jordan SJ, Green AC, Whiteman DC, Moore SP, Bain CJ, Gertig DM, et al. Serous ovarian, fallopian tube and primary peritoneal cancers: a comparative epidemiological analysis. *Int J Cancer.* 2008;122(7):1598-603.

10. Cibula D, Widschwendter M, Majek O, Dusek L. Tubal ligation and the risk of ovarian cancer: review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2011;17(1):55-67.
11. Camargo MC, Stayner LT, Straif K, Reina M, Al-Alem U, Demers PA, et al. Occupational exposure to asbestos and ovarian cancer: a meta-analysis. *Environ Health Perspect*. 2011;119(9):1211-7.
12. Prat J. Ovarian carcinomas: five distinct diseases with different origins, genetic alterations, and clinicopathological features. *Virchows Arch*. 2012;460(3):237-49.
13. Kurman RJ. Origin and molecular pathogenesis of ovarian high-grade serous carcinoma. *Ann Oncol*. 2013;24 Suppl 10:x16-21.
14. Shih Ie M, Kurman RJ. Ovarian tumorigenesis: a proposed model based on morphological and molecular genetic analysis. *Am J Pathol*. 2004;164(5):1511-8.
15. Kurman RJ, Shih Ie M. The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: a proposed unifying theory. *Am J Surg Pathol*. 2010;34(3):433-43.
16. Bankhead CR, Kehoe ST, Austoker J. Symptoms associated with diagnosis of ovarian cancer: a systematic review. *BJOG*. 2005;112(7):857-65.
17. Berek JS, Kehoe ST, Kumar L, Friedlander M. Cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum. *Int J Gynaecol Obstet*. 2018;143 Suppl 2:59-78.
18. Arora T, Mullangi S, Lekkala MR. Ovarian Cancer. *StatPearls*. Treasure Island (FL)2022.
19. du Bois A, Reuss A, Pujade-Lauraine E, Harter P, Ray-Coquard I, Pfisterer J. 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). *Cancer*. 2009;115(6):1234-44.
20. du Bois A, Rochon J, Pfisterer J, Hoskins WJ. Variations in institutional infrastructure, physician specialization and experience, and outcome in ovarian cancer: a systematic review. *Gynecol Oncol*. 2009;112(2):422-36.

21. du Bois A, Luck HJ, Meier W, Adams HP, Mobus V, Costa S, et al. A randomized clinical trial of cisplatin/paclitaxel versus carboplatin/paclitaxel as first-line treatment of ovarian cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2003;95(17):1320-9.
22. Burger RA, Brady MF, Bookman MA, Fleming GF, Monk BJ, Huang H, et al. Incorporation of bevacizumab in the primary treatment of ovarian cancer. *N Engl J Med.* 2011;365(26):2473-83.
23. Perren TJ, Swart AM, Pfisterer J, Ledermann JA, Pujade-Lauraine E, Kristensen G, et al. A phase 3 trial of bevacizumab in ovarian cancer. *N Engl J Med.* 2011;365(26):2484-96.
24. Moore K, Colombo N, Scambia G, Kim BG, Oaknin A, Friedlander M, et al. Maintenance Olaparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. *N Engl J Med.* 2018;379(26):2495-505.
25. Gonzalez-Martin A, Pothuri B, Vergote I, DePont Christensen R, Graybill W, Mirza MR, et al. Niraparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. *N Engl J Med.* 2019;381(25):2391-402.
26. Ray-Coquard I, Pautier P, Pignata S, Perol D, Gonzalez-Martin A, Berger R, et al. Olaparib plus Bevacizumab as First-Line Maintenance in Ovarian Cancer. *N Engl J Med.* 2019;381(25):2416-28.
27. Monk BJ, Colombo N, Oza AM, Fujiwara K, Birrer MJ, Randall L, et al. Chemotherapy with or without avelumab followed by avelumab maintenance versus chemotherapy alone in patients with previously untreated epithelial ovarian cancer (JAVELIN Ovarian 100): an open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2021;22(9):1275-89.
28. Moore KN, Bookman M, Sehouli J, Miller A, Anderson C, Scambia G, et al. Atezolizumab, Bevacizumab, and Chemotherapy for Newly Diagnosed Stage III or IV Ovarian Cancer: Placebo-Controlled Randomized Phase III Trial (IMagyn050/GOG 3015/ENGOT-OV39). *J Clin Oncol.* 2021;39(17):1842-55.
29. Palaia I, Tomao F, Sassu CM, Musacchio L, Benedetti Panici P. Immunotherapy For Ovarian Cancer: Recent Advances And Combination Therapeutic Approaches. *Onco Targets Ther.* 2020;13:6109-29.
30. Friedlander ML. Prognostic factors in ovarian cancer. *Semin Oncol.* 1998;25(3):305-14.

31. Thigpen T, Brady MF, Omura GA, Creasman WT, McGuire WP, Hoskins WJ, et al. Age as a prognostic factor in ovarian carcinoma. The Gynecologic Oncology Group experience. *Cancer*. 1993;71(2 Suppl):606-14.
32. Verhaak RG, Tamayo P, Yang JY, Hubbard D, Zhang H, Creighton CJ, et al. Prognostically relevant gene signatures of high-grade serous ovarian carcinoma. *J Clin Invest*. 2013;123(1):517-25.
33. Hwang WT, Adams SF, Tahirovic E, Hagemann IS, Coukos G. Prognostic significance of tumor-infiltrating T cells in ovarian cancer: a meta-analysis. *Gynecol Oncol*. 2012;124(2):192-8.
34. Czogalla B, Partenheimer A, Jeschke U, von Schonfeldt V, Mayr D, Mahner S, et al. beta-arrestin 2 Is a Prognostic Factor for Survival of Ovarian Cancer Patients Upregulating Cell Proliferation. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11:554733.
35. Liao Y, Badmann S, Kaltofen T, Mayr D, Schmoeckel E, Deuster E, et al. Platelet-Activating Factor Acetylhydrolase Expression in BRCA1 Mutant Ovarian Cancer as a Protective Factor and Potential Negative Regulator of the Wnt Signaling Pathway. *Biomedicines*. 2021;9(7).
36. van Zyl B, Tang D, Bowden NA. Biomarkers of platinum resistance in ovarian cancer: what can we use to improve treatment. *Endocr Relat Cancer*. 2018;25(5):R303-R18.
37. Luvero D, Milani A, Ledermann JA. Treatment options in recurrent ovarian cancer: latest evidence and clinical potential. *Ther Adv Med Oncol*. 2014;6(5):229-39.
38. Lheureux S, Braunstein M, Oza AM. Epithelial ovarian cancer: Evolution of management in the era of precision medicine. *CA Cancer J Clin*. 2019;69(4):280-304.
39. Ledermann J, Harter P, Gourley C, Friedlander M, Vergote I, Rustin G, et al. Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed serous ovarian cancer: a preplanned retrospective analysis of outcomes by BRCA status in a randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2014;15(8):852-61.
40. Harter P, Sehouli J, Vergote I, Ferron G, Reuss A, Meier W, et al. Randomized Trial of Cytoreductive Surgery for Relapsed Ovarian Cancer. *N Engl J Med*. 2021;385(23):2123-31.

41. Pujade-Lauraine E, Hilpert F, Weber B, Reuss A, Poveda A, Kristensen G, et al. Bevacizumab combined with chemotherapy for platinum-resistant recurrent ovarian cancer: The AURELIA open-label randomized phase III trial. *J Clin Oncol*. 2014;32(13):1302-8.
42. Albuquerque K, Patel M, Liotta M, Harkenrider M, Guo R, Small W, Jr., et al. Long-term Benefit of Tumor Volume-Directed Involved Field Radiation Therapy in the Management of Recurrent Ovarian Cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2016;26(4):655-60.
43. Brown AP, Jhingran A, Klopp AH, Schmeler KM, Ramirez PT, Eifel PJ. Involved-field radiation therapy for locoregionally recurrent ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2013;130(2):300-5.
44. Szakacs G, Paterson JK, Ludwig JA, Booth-Genthe C, Gottesman MM. Targeting multidrug resistance in cancer. *Nat Rev Drug Discov*. 2006;5(3):219-34.
45. Rabik CA, Dolan ME. Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer Treat Rev*. 2007;33(1):9-23.
46. Davis A, Tinker AV, Friedlander M. "Platinum resistant" ovarian cancer: what is it, who to treat and how to measure benefit? *Gynecol Oncol*. 2014;133(3):624-31.
47. Siddik ZH. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene*. 2003;22(47):7265-79.
48. Mandic A, Hansson J, Linder S, Shoshan MC. Cisplatin induces endoplasmic reticulum stress and nucleus-independent apoptotic signaling. *J Biol Chem*. 2003;278(11):9100-6.
49. Yang-Hartwich Y, Soteras MG, Lin ZP, Holmberg J, Sumi N, Craveiro V, et al. p53 protein aggregation promotes platinum resistance in ovarian cancer. *Oncogene*. 2015;34(27):3605-16.
50. Reles A, Wen WH, Schmider A, Gee C, Runnebaum IB, Kilian U, et al. Correlation of p53 mutations with resistance to platinum-based chemotherapy and shortened survival in ovarian cancer. *Clin Cancer Res*. 2001;7(10):2984-97.
51. Vasey PA, Jones NA, Jenkins S, Dive C, Brown R. Cisplatin, camptothecin, and taxol sensitivities of cells with p53-associated multidrug resistance. *Mol Pharmacol*. 1996;50(6):1536-40.

52. Patch AM, Christie EL, Etemadmoghadam D, Garsed DW, George J, Fereday S, et al. Whole-genome characterization of chemoresistant ovarian cancer. *Nature*. 2015;521(7553):489-94.
53. Wei SH, Balch C, Paik HH, Kim YS, Baldwin RL, Liyanarachchi S, et al. Prognostic DNA methylation biomarkers in ovarian cancer. *Clin Cancer Res*. 2006;12(9):2788-94.
54. Cass I, Baldwin RL, Varkey T, Moslehi R, Narod SA, Karlan BY. Improved survival in women with BRCA-associated ovarian carcinoma. *Cancer*. 2003;97(9):2187-95.
55. Vencken P, Kriege M, Hoogwerf D, Beugelink S, van der Burg MEL, Hooning MJ, et al. Chemosensitivity and outcome of BRCA1- and BRCA2-associated ovarian cancer patients after first-line chemotherapy compared with sporadic ovarian cancer patients. *Ann Oncol*. 2011;22(6):1346-52.
56. Alsop K, Fereday S, Meldrum C, deFazio A, Emmanuel C, George J, et al. BRCA mutation frequency and patterns of treatment response in BRCA mutation-positive women with ovarian cancer: a report from the Australian Ovarian Cancer Study Group. *J Clin Oncol*. 2012;30(21):2654-63.
57. Cancer Genome Atlas Research N. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature*. 2011;474(7353):609-15.
58. Esteller M, Silva JM, Dominguez G, Bonilla F, Matias-Guiu X, Lerma E, et al. Promoter hypermethylation and BRCA1 inactivation in sporadic breast and ovarian tumors. *J Natl Cancer Inst*. 2000;92(7):564-9.
59. Sun C, Li N, Yang Z, Zhou B, He Y, Weng D, et al. miR-9 regulation of BRCA1 and ovarian cancer sensitivity to cisplatin and PARP inhibition. *J Natl Cancer Inst*. 2013;105(22):1750-8.
60. Nakayama K, Miyazaki K, Kanzaki A, Fukumoto M, Takebayashi Y. Expression and cisplatin sensitivity of copper-transporting P-type adenosine triphosphatase (ATP7B) in human solid carcinoma cell lines. *Oncol Rep*. 2001;8(6):1285-7.
61. Godwin AK, Meister A, O'Dwyer PJ, Huang CS, Hamilton TC, Anderson ME. High resistance to cisplatin in human ovarian cancer cell lines is associated with marked increase of glutathione synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89(7):3070-4.

62. Lou H, Du S, Ji Q, Stolz A. Induction of AKR1C2 by phase II inducers: identification of a distal consensus antioxidant response element regulated by NRF2. *Mol Pharmacol*. 2006;69(5):1662-72.
63. Zahreddine H, Borden KL. Mechanisms and insights into drug resistance in cancer. *Front Pharmacol*. 2013;4:28.
64. Steg AD, Bevis KS, Katre AA, Ziebarth A, Dobbin ZC, Alvarez RD, et al. Stem cell pathways contribute to clinical chemoresistance in ovarian cancer. *Clin Cancer Res*. 2012;18(3):869-81.
65. Schiff PB, Horwitz SB. Taxol stabilizes microtubules in mouse fibroblast cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1980;77(3):1561-5.
66. Kampan NC, Madondo MT, McNally OM, Quinn M, Plebanski M. Paclitaxel and Its Evolving Role in the Management of Ovarian Cancer. *Biomed Res Int*. 2015;2015:413076.
67. Belotti D, Vergani V, Drudis T, Borsotti P, Pitelli MR, Viale G, et al. The microtubule-affecting drug paclitaxel has antiangiogenic activity. *Clin Cancer Res*. 1996;2(11):1843-9.
68. Alexandre J, Hu Y, Lu W, Pelicano H, Huang P. Novel action of paclitaxel against cancer cells: bystander effect mediated by reactive oxygen species. *Cancer Res*. 2007;67(8):3512-7.
69. Das T, Anand U, Pandey SK, Ashby CR, Jr., Assaraf YG, Chen ZS, et al. Therapeutic strategies to overcome taxane resistance in cancer. *Drug Resist Updat*. 2021;55:100754.
70. Gottesman MM, Fojo T, Bates SE. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters. *Nat Rev Cancer*. 2002;2(1):48-58.
71. Penson RT, Oliva E, Skates SJ, Glyptis T, Fuller AF, Jr., Goodman A, et al. Expression of multidrug resistance-1 protein inversely correlates with paclitaxel response and survival in ovarian cancer patients: a study in serial samples. *Gynecol Oncol*. 2004;93(1):98-106.
72. Thibault B, Castells M, Delord JP, Couderc B. Ovarian cancer microenvironment: implications for cancer dissemination and chemoresistance acquisition. *Cancer Metastasis Rev*. 2014;33(1):17-39.
73. Badmann S, Heublein S, Mayr D, Reischer A, Liao Y, Kolben T, et al. M2 Macrophages Infiltrating Epithelial Ovarian Cancer Express MDR1: A Feature That May Account for the Poor Prognosis. *Cells*. 2020;9(5).



74. Czogalla B, Kahaly M, Mayr D, Schmoeckel E, Niesler B, Hester A, et al. Correlation of NRF2 and progesterone receptor and its effects on ovarian cancer biology. *Cancer Manag Res.* 2019;11:7673-84.
75. Wang XJ, Sun Z, Villeneuve NF, Zhang S, Zhao F, Li Y, et al. Nrf2 enhances resistance of cancer cells to chemotherapeutic drugs, the dark side of Nrf2. *Carcinogenesis.* 2008;29(6):1235-43.
76. Jaramillo MC, Zhang DD. The emerging role of the Nrf2-Keap1 signaling pathway in cancer. *Genes Dev.* 2013;27(20):2179-91.
77. Wang XJ, Hayes JD, Wolf CR. Generation of a stable antioxidant response element-driven reporter gene cell line and its use to show redox-dependent activation of nrf2 by cancer chemotherapeutic agents. *Cancer Res.* 2006;66(22):10983-94.
78. Badmann S, Mayr D, Schmoeckel E, Hester A, Buschmann C, Beyer S, et al. AKR1C1/2 inhibition by MPA sensitizes platinum resistant ovarian cancer towards carboplatin. *Sci Rep.* 2022;12(1):1862.
79. Wanderley CW, Colon DF, Luiz JPM, Oliveira FF, Viacava PR, Leite CA, et al. Paclitaxel Reduces Tumor Growth by Reprogramming Tumor-Associated Macrophages to an M1 Profile in a TLR4-Dependent Manner. *Cancer Res.* 2018;78(20):5891-900.
80. Chen J, Solomides C, Parekh H, Simpkins F, Simpkins H. Cisplatin resistance in human cervical, ovarian and lung cancer cells. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2015;75(6):1217-27.

## Danksagung

Zunächst danke ich Herrn Prof. Dr. rer. nat. Udo Jeschke, Herrn Prof. Dr. med. Fabian Trillsch und Herrn Prof. Dr. med. Markus Sperandio für die hervorragende wissenschaftliche Betreuung meiner Dissertation.

Ganz besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. Bastian Czogalla für die Idee zum Promotionsthema, die hervorragende Zusammenarbeit und die immerwährende Unterstützung, die maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Ebenso danke ich den anderen Doktorand:innen und Mitarbeiter:innen des Forschungslabors der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe in der Maistraße für die angenehme und hilfsbereite Arbeitsatmosphäre. Mit euch hat die Arbeit im Labor großen Spaß gemacht.

Allen Kooperationspartnern danke ich für die vertrauensvolle Zusammenarbeit, insbesondere Frau Prof. Dr. med. Doris Mayr und Frau Dr. med. Elisa Schmoeckel vom Pathologischen Institut der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Der Studienstiftung des deutschen Volkes danke ich für die ideelle sowie finanzielle Förderung meines Medizinstudiums.

Zuletzt danke ich meinem Mann, meiner Familie und meinen Freund:innen für ihren liebevollen Beistand und ihre Geduld während meines Studiums und meiner Promotion.