

Aus der Klinik und Poliklinik für Geburtshilfe und Frauengesundheit
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Prognostische Bedeutung von Nuclear Factor kappa B (NFκB) beim adjuvant
unbehandelten nodal-negativen Mammakarzinom

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
Medizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Maximilian Weikel
aus Mainz

Mainz, 2021

Tag der Promotion: 12. Juli 2022

Gewidmet meiner Ehefrau
und dem kleinen Regenbogen in ihrem Bauch
den ich schon jetzt über alles liebe

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG / ZIEL DER DISSERTATION	12
1.1	Einleitung	12
1.2	Nuclear Factor kappa B	13
1.3	Problemstellung	13
2	LITERATURDISKUSSION	15
2.1	Epidemiologie des Mammakarzinoms	15
2.2	Risikofaktoren und Prävention des Mammakarzinoms	17
2.2.1	Beeinflussbare Lebensstilfaktoren	17
2.2.2	Nicht beeinflussbare Risikofaktoren	17
2.2.3	Bedingt beeinflussbare Risikofaktoren	18
2.2.4	Familiäres Mammakarzinom	18
2.2.5	Sekundärprävention	19
2.2.6	Mammographie Screening	19
2.3	Diagnostik des Mammakarzinoms	21
2.4	Prognostische und prädiktive Faktoren	22
2.5	Operative Therapie des Mammakarzinoms	38
2.5.1	Generelle Konzepte	38
2.5.2	Operative Therapie der Brust	38
2.5.3	Operative Therapie der Lymphknoten	39
2.6	Strahlentherapie des Mammakarzinoms	40
2.6.1	Bestrahlung nach brusterhaltender Operation	40
2.6.2	Postmastektomiebestrahlung	40
2.6.3	Bestrahlung der Lymphabflusswege	41
2.7	Systemische Therapie des Mammakarzinoms	41
2.7.1	Adjuvante Therapie	41
2.7.2	Adjuvante endokrine Therapie	42
2.7.3	Adjuvante Chemotherapie	42
2.7.4	Adjuvante Therapie bei HER2-Überexpression	43
2.7.5	Adjuvante Therapie bei triple-negativen Tumoren / <i>BRCA</i> -Mutation	43

2.8	Rezidiertes und metastasiertes Mammakarzinom	43
2.9	Nuclear Factor kappa B	44
2.9.1	Allgemeine Übersicht zu NFκB	44
2.9.2	Bezüge zur Mamma und zum Mammakarzinom	46
2.9.3	Einfluss von NFκB auf Chemo-, Radio- und endokrine Therapie	47
2.9.4	NFκB und histopathologische Prognosefaktoren	48
2.9.5	Therapeutische Ansätze zur Beeinflussung des NFκB-Stoffwechsels	48
3	MATERIALIEN UND METHODEN	50
3.1	Patientinnenkollektiv	50
3.2	Datenerhebung	50
3.2.1	Datenquellen	50
3.2.2	NFκB-Analysen	50
3.2.2	Personenbezogene Daten	51
3.2.3	Tumornachsorge	52
3.3	Statistische Auswertung	52
3.4	Erhobene Variablen	53
4	ERGEBNISSE	57
4.1	Nachbeobachtung der Krankheitsverläufe	57
4.2	Ergebnisse der untersuchten Variablen und Prognosefaktoren	59
4.3	Korrelationen zwischen NFκB und Prognosefaktoren	59
4.4	Überlebenszeitanalysen (Kaplan-Meier-Analyse)	66
4.5	Überlebensfunktionen (Kaplan-Meier-Analyse) in den Subgruppen	80
4.6	Berechnung der Überlebensfunktionen mittels Cox-Regression	86
5	DISKUSSION	91
5.1	Kaplan-Meier-Analyse der histopathologischen Prognosefaktoren	91
5.2	Korrelation zwischen NFκB und Prognosefaktoren (Chi-Quadrat-Tests)	94
5.3	Wertigkeit von NFκB als Prognosefaktor (Kaplan-Meier-Analyse)	96
5.4	Kaplan-Meier Analyse der Prognosefaktoren in den NFκB-Subgruppen	96

5.5	Cox-Regressionen	96
5.6	NFκB als Prognosefaktor	97
5.7	Stärken-/ Schwächenanalyse der Untersuchung	97
6	ZUSAMMENFASSUNG	99
7	LITERATURVERZEICHNIS	102
8	DANKSAGUNG	115

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Synonym
AKT	AKR mouse T-cell lymphoma transforming retrovirus Synonym Proteinkinase B
ASCO	American Society of Clinical Oncology
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften
AZ	Allgemeinzustand (körperliche und geistige Verfassung)
BET	Brusterhaltende Therapie
BMI	Body-Mass-Index
BRCA	Breast Cancer Antigen
CDK 4/6	Cyclin-dependent Kinase 4/6
CISH	Chromogene-in-situ-Hybridisierung
DCIS	Ductales Carcinoma in situ
DDT	Dichlordiphenyltrichlorethan
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ER	Östrogenrezeptor
FBREK	Familiärer Brust- und Eierstockkrebs
FIGO	Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
HER	human epithelial growth factor receptor
HRT	Hormonersatztherapie
IKK	I-kappa B-alpha Kinasen
IQWiG	Institut für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen
IRS	Immunreaktiver Score
MFS	Metastasis free Survival (metastasenfreies Überleben/Intervall)
mTOR	mechanistic Target Of Rapamycin
NFκB	Nuclear Factor kappa B
OS	Overall Survival (Gesamtüberleben)

PAI-1	Plasminogen Activator Inhibitor type 1
PARP	Poly (ADP-Ribose)-Polymerase
PCB	Polychlorierte Biphenyle
PET/CT	Kombination aus Positronen-Emissions-Tomographie und Computer-Tomographie
PI3K	Phosphoinosid-3-Kinase
PR	Progesteronrezeptor
RANK	Rezeptor-Aktivator von NFκB
RFS	Recurrence free Survival (Rezidivfreies Überleben/Intervall)
RNA	Ribonukleinsäure
TNF	Tumor Nekrose Faktor
TNM	Tumorstadien-Einteilungssystem der UICC
UICC	Union Internationale Contre le Cancer
uPA	urokinase-type Plasminogen Activator

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klinische, pathologische und labormedizinische Tumormerkmale.....	23
Tabelle 2: Kriterien des Gradings nach Elston und Ellis	25
Tabelle 3: Vergleich von FIGO-Stadium und TNM-Stadium (UICC).....	26
Tabelle 4: Immunreaktiver Score der Hormonrezeptoren (Remmele & Stegner)	28
Tabelle 5: HER2 Auswertung (Wolff et al., 2013).....	32
Tabelle 6: Surrogate definitions of intrinsic subtypes of breast cancer	34
Tabelle 7: Verteilung der Beobachtungsparameter, der Variablen und Prognosefaktoren auf die Subgruppen.....	54
Tabelle 8: Kaplan-Meier-Analyse in NFkB-Subgruppen ohne signifikante p-Werte..	80
Tabelle 9: Univariate Cox-Regression von Prognosefaktoren und NFkB sowie Subgruppen-Fallzahl	86
Tabelle 10: Multivariate Cox- Regressionsanalyse NFkB und Prognosefaktoren	Fehler! Textmarke nicht definiert.
Tabelle 11: Multivariate Cox- Regression der Prognosefaktoren (nur univariat signifikante Faktoren)	89

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Taschenkrebs.....	12
Abbildung 2: Altersverteilung des Mammakarzinoms.....	16
Abbildung 3: Stoffwechselwege Thyrosin-Kinase-Rezeptoren HER1-4	31
Abbildung 4: Intrinsische Subtypen des Mammakarzinoms	33
Abbildung 5: Checkliste zur Erfassung einer familiären genetischen Belastung	37
Abbildung 6: Stoffwechselwege von NFkB.....	45
Abbildung 7: Gesamtüberleben im untersuchten Patientinnenkollektiv	57
Abbildung 8: Rezidivfreies Überleben im Patientinnenkollektiv, n = 31	58
Abbildung 9: Metastasenfreies Überleben im Patientinnenkollektiv, n = 49	58
Abbildung 10: Häufigkeitsverteilung von NFkB.....	59
Abbildung 11: Chi-Quadrat-Test: NFkB-Expression und histologischer Tumortyp ...	60
Abbildung 12: Chi-Quadrat-Test: Beziehung zwischen NFkB und Tumorstadium....	60
Abbildung 13: Chi-Quadrat-Test: NFkB und Angioinvasion.....	61
Abbildung 14: Chi-Quadrat-Test: NFkB und Malignitätsgrad.....	61
Abbildung 15: Chi-Quadrat-Test: NFkB und uPA	62
Abbildung 16: Chi-Quadrat-Test: NFkB und PAI-1	62

Abbildung 17: Chi-Quadrat-Test: NFκB und Östrogenrezeptoren	63
Abbildung 18: Chi-Quadrat-Test: NFκB und Progesteronrezeptoren	63
Abbildung 19: Chi-Quadrat-Test: NFκB und Wachstumsfraktion.....	64
Abbildung 20: Chi-Quadrat-Test: NFκB und HER2	65
Abbildung 21: Chi-Quadrat-Test: NFκB und intrinsischer Tumortyp.....	65
Abbildung 22: Analyse des Gesamtüberlebens für NFκB.....	66
Abbildung 23: Analyse des metastasenfren Überlebens für NFκB	67
Abbildung 24: Analyse des Gesamtüberlebens für den histologischen Tumortyp	68
Abbildung 25: Analyse des metastasenfren Überlebens für den histologischen Tumortyp	68
Abbildung 26: Analyse des Gesamtüberlebens für das Tumorstadium	69
Abbildung 27: Analyse des metastasenfren Überlebens für das Tumorstadium....	69
Abbildung 28: Analyse des Gesamtüberlebens für die Angioinvasion.....	70
Abbildung 29: Analyse des metastasenfren Überlebens für die Angioinvasion	70
Abbildung 30: Analyse des Gesamtüberlebens für den Malignitätsgrad	71
Abbildung 31: Analyse des metastasenfren Überlebens für den Malignitätsgrad ..	71
Abbildung 32: Analyse des Gesamtüberlebens für die uPA-Expression	72
Abbildung 33: Analyse des metastasenfren Überlebens für die uPA-Expression..	73
Abbildung 34: Analyse des Gesamtüberlebens für die PAI-1-Expression	73
Abbildung 35: Analyse des metastasenfren Überlebens für die PAI-1-Expression	74
Abbildung 36: Analyse des Gesamtüberlebens für die Östrogenrezeptor-Expression	75
Abbildung 37: Analyse des metastasenfren Überlebens für die Östrogenrezeptor- Expression.....	75
Abbildung 38: Analyse des Gesamtüberlebens für die Progesteronrezeptor- Expression.....	76
Abbildung 39: Analyse des metastasenfren Überlebens für die Progesteronrezeptor-Expression.....	76
Abbildung 40: Analyse des Gesamtüberlebens für die Wachstumsfraktion	77
Abbildung 41: Analyse des metastasenfren Überlebens für die Wachstumsfraktion	77
Abbildung 42: Analyse des Gesamtüberlebens für HER2-Überexpression.....	78
Abbildung 43: Analyse des metastasenfren Überlebens für HER2-Überexpression	78
Abbildung 44: Analyse des Gesamtüberlebens für die intrinsischen Subtypen	79

Abbildung 45: Analyse des metastasenfreien Überlebens für die intrinsischen Subtypen	79
Abbildung 46: Kaplan-Meier-Analyse für die NFκB-Expression bei „PAI-1 niedrig“ (Gesamtüberleben)	82
Abbildung 47: Kaplan-Meier-Analyse für die NFκB-Expression bei „PAI-1 niedrig“ (metastasenfreies Überleben)	82
Abbildung 48: Kaplan-Meier-Analyse: NFκB in der Subgruppe „ER-positiv“ (Gesamtüberleben)	83
Abbildung 49: Kaplan-Meier-Analyse: NFκB in der Subgruppe „ER-positiv“ (metastasen-freies Überleben)	83
Abbildung 50: Kaplan-Meier-Analyse: NFκB in der Subgruppe „PR-positiv (Gesamtüberleben)“	84
Abbildung 51: Kaplan-Meier-Analyse: NFκB in der Subgruppe „PR-positiv (metastasen-freies Überleben)“	84
Abbildung 52: Kaplan-Meier-Analyse: NFκB in der Subgruppe „Luminal-A“ (Gesamtüberleben)	85
Abbildung 53: Kaplan-Meier-Analyse: NFκB in der Subgruppe „Luminal-A“ (metastasen-freies Überleben)	85

1 Einleitung / Ziel der Dissertation

1.1 Einleitung

Tumorbildungen der weiblichen Brust lassen sich äußerlich gut beobachten und untersuchen. Sie waren daher bereits Gegenstand von Beschreibungen der „Väter der Medizin“ wie Hippokrates (460-370 v.Chr., sogenanntes Corpus Hippocraticum) (Kollesch and Nickel, 1994). Wegen der häufig harten Konsistenz und den im fortgeschrittenen Stadium strahligen Einziehungen drängte sich das Bild eines (Taschen-)Krebses auf (Abb. 1), der im Gewebe der Brust aktiv ist, sodass der griechische Name eines Krebses („Karkinos“) von Hippokrates und seinen Nachfolgern für die Benennung der humanen Tumorbildungen eingeführt wurde und in der heutigen Terminologie als „Karzinoma“ weiter existiert.



Abbildung 1: Taschenkrebs

Quelle: Lizenzfreie Fotografie, kommerziell erworben bei IStockphoto.com

Früh erkannte man auch, dass solche Tumore Absiedlungen („Metastasen“, altgriechisch für „Wanderung“) ausbilden können. Mit den Fortschritten der Narkoseverfahren in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts gab es Hoffnungen, dass durch immer radikalere und teils verstümmelnde Operationen ein Brustkrebs geheilt werden könne – ein Trugschluss.

Durch die Entwicklung von Chemotherapeutika, die sich beim Mammakarzinom als wirksam erwiesen, war jedoch die medikamentöse Therapieoption geboren und führte ab 1960/1970 zu Therapieerfolgen. Mit der Entdeckung der Hormonrezeptoren und einem ersten Rezeptorantagonisten (Tamoxifen) war der Grundstein zu einer gut verträglichen, oralen und individualisierten Therapie gemacht (Zulassung in den USA

1978). Seit dieser Zeit erfolgten zahlreiche biochemische Analysen, um Stoffwechselwege in gesunden und tumorösen Zellen zu beschreiben, insbesondere mit dem Ziel, Medikamente zu entwickeln, welche die Tumorzellentwicklung und -Vermehrung sowie Resistenzmechanismen beeinflussen. Vonseiten der gynäkologischen Onkologie war dabei ein wichtiger Aspekt, zum einen Tumorgewebe in fixierter oder tiefgefrorener Form zu asservieren, zum anderen die klinischen Krankheitsverläufe der jeweiligen Krebspatientinnen zu verfolgen.

Da die Universitätsfrauenklinik Mainz über mehr als 30 Jahre eine eigene histologische und tumor-endokrinologische Abteilung führte, wurden bereits ab 1980 solche „Tumordatenbanken“ angelegt und von einer langen Reihe von Forschern weitergeführt und gepflegt. Damit war es immer wieder möglich, neue wissenschaftliche Erkenntnisse und Fragestellungen an Gewebeproben und Krankheitsverläufen zu überprüfen.

Die Mammakarzinom-Datenbank war hierbei die älteste und aufgrund der Tumorfrequenz umfangreichste Datei, sodass heute auch Analysen in Subpopulationen möglich sind.

1.2 Nuclear Factor kappa B

NFκB ist ein spezifischer Transkriptionsfaktor, der in allen menschlichen Zellen nachzuweisen ist. Spezifische Transkriptionsfaktoren sind Proteinkomplexe, die der RNA-Polymerase vermitteln, welches Gen transkribiert werden soll. NFκB ist an zahlreichen Prozessen beteiligt, wie der Regulation von Zellproliferation, der Immunantwort und dem Zelltod, wird aber auch mit zahlreichen Erkrankungen in Zusammenhang gebracht (Park, 2017).

Bei vielen Krebserkrankungen wird ebenfalls eine Aktivierung von NFκB beobachtet (Ghosh et al., 1998), insbesondere im Zusammenhang mit der tumorinduzierten Immunmodulation (Vallabhapurapu and Karin, 2009), (Baud and Karin, 2009).

1.3 Problemstellung

In der Literatur gibt es Daten über die molekularen Analysen des NFκB-Pathways, die entsprechend seiner Schlüsselrolle für zahlreiche zelluläre Prozesse sehr umfangreich sind.

Daneben gibt es in der Onkologie zahlreiche Publikationen, die Analysen und Korrelationen zu prognostisch ungünstigen Mammakarzinomen, wie z.B. basaloid / triple-negativ oder dem Metastasierungspotential beschreiben. Bisher finden sich jedoch keine

Arbeiten, die eine Überexpression von NFκB an einem prognostisch günstigen, nodal-negativen und systemisch unbehandeltem Kollektiv untersuchen und dies mit dem kompletten Panel an etablierten Prognosefaktoren verglichen haben. Dies soll mit der Problemstellung der geplanten Dissertation etabliert werden.

In der Vergangenheit war es bereits möglich, in einer Kooperation von insgesamt 400 Fällen eine molekulargenetische Bestimmung von NFκB zu etablieren. Ein Subkollektiv umfasst 200 Fälle von nodal-negativen Mammakarzinomen. Diese Patientinnen aus den Jahrgängen der Klinik von 1988 – 2000 waren in den primären Staging-Untersuchungen nicht metastasiert und erhielten keine systemische adjuvante Therapie. Nach einer Aktualisierung der Datenbank, insbesondere mit neuen Erhebungen der Überlebensrate und des metastasenfren Intervalls, soll in diesem Kollektiv eine Korrelation zum NFκB-Status sowie auch zu den etablierten prognostischen und prädiktiven Faktoren hergestellt werden.

2 Literaturdiskussion

2.1 Epidemiologie des Mammakarzinoms

Weltweite Analyse (Bray et al., 2018):

Betrachtet man die globale Statistik (2018) der bösartigen Erkrankungen der Frau, ist das Mammakarzinom der häufigste maligne Tumor (24,2%) vor kolorektalen Karzinomen (9,5%) und dem Bronchialkarzinom (8,4%). Bei der Mortalität liegt der Brustkrebs mit 15% vor dem Bronchialkarzinom mit 13,8% und den kolorektalen Karzinomen mit 9,5%.

In der Summe wurden 2018 weltweit 2,09 Millionen neue Brustkrebserkrankungen, 794.000 kolorektale Karzinome und 725.000 Bronchialkarzinome diagnostiziert. Unter den karzinombedingten Todesursachen führt das Mammakarzinom in 154 von 185 untersuchten Ländern, gefolgt vom Zervixkarzinom in 28 der verbleibenden 31 Ländern. Insgesamt verstarben im Jahr 2018 weltweit 626.000 Frauen an Brustkrebs. Die Industrieländer (Europa, Nordamerika, Australien) verzeichnen deutlich höhere Inzidenzraten mit 80-94 Fällen pro 100.000 Einwohnern im Vergleich zu Afrika und Asien mit 25-48 Fällen pro 100.000. Die Mortalität an Brustkrebs liegt jedoch weltweit ähnlich hoch mit 10-18 Fällen pro 100.000 Bewohnern.

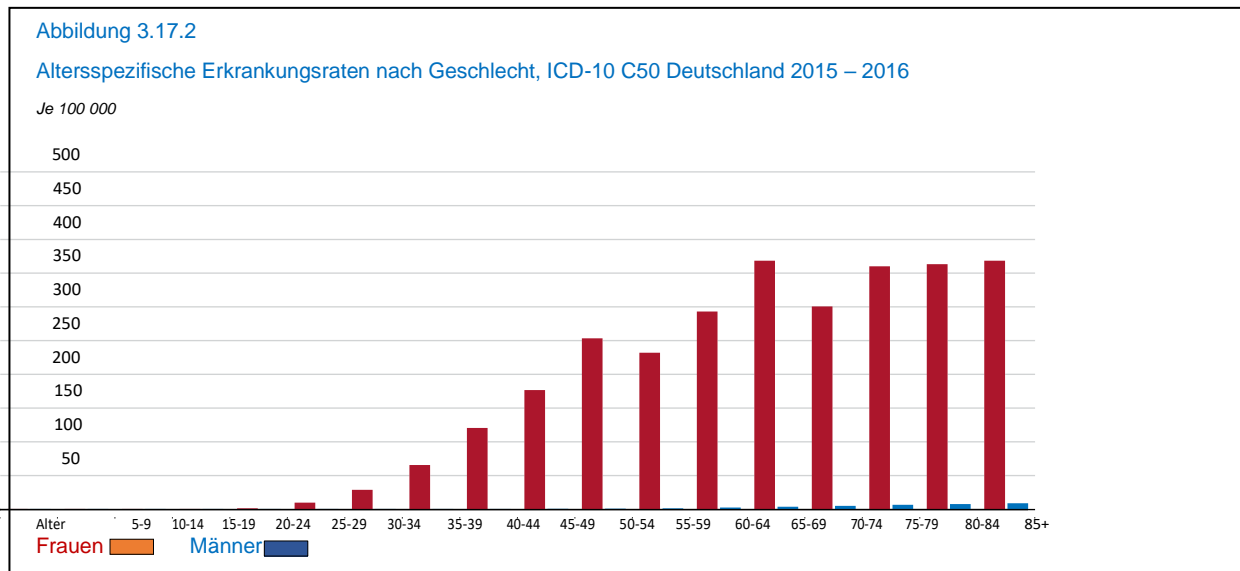
Deutschland (Robert Koch Institut, 2019):

Hier liegen als neueste die epidemiologischen Daten für die Jahre 2015/2016 vor. Die Maßzahlen in Deutschland sind 68.900 Neuerkrankungen an Brustkrebs für 2016, hierzu kommen etwa 6000 Fälle für In-situ-Karzinome (Vorstufen). Brustkrebs gibt es in etwa 1% auch bei Männern mit 710 Neuerkrankungen. Das lebenslange Erkrankungsrisiko liegt derzeit bei etwa einer von acht Frauen. Betrachtet man die altersstandardisierte Inzidenzrate, hat sich die Anzahl seit 1970 mehr als verdoppelt mit einer Prognose von 69.600 Neuerkrankungen für das Jahr 2020. Mit der Einführung des Mammographie-Screeningprogramms 2005-2009 stiegen die Neuerkrankungsraten zunächst deutlich an mit einem anschließenden langsamen Rückzug. Die Mortalitätsrate ist in Deutschland seit etwa 1995 rückläufig, 2016 verstarben 18.570 Frauen und 166 Männer an Brustkrebs (Prognose für 2017: 18401/192).

Für diesen Rückgang macht das Robert Koch-Institut medizinische Fortschritte in der Therapie verantwortlich: „Es wird erst in einigen Jahren beurteilbar sein, inwieweit das Screening eine weitere Verringerung bewirken kann“.

Die Brustkrebserkrankungsraten sind altersspezifisch (Abb. 2): Wenige Neuerkrankungen gibt es bereits in der Altersgruppe von 25-29 Lebensjahren (LJ). Dann findet sich ein fast linearer Anstieg bis zur Gruppe 65-69 LJ. Dieses hohe Niveau bleibt nahezu konstant bis zur Altersgruppe 85+ LJ. Somit sind 3 von 10 erkrankten Frauen jünger als 55 Jahre. Bei den Männern beginnt die Inzidenz mit 60-64 LJ und verdoppelt sich bis 85+ LJ.

Abbildung 2: Altersverteilung des Mammakarzinoms



Quelle: mod. nach (Zentrum für Krebsregisterdaten, Robert Koch Institut 2017)(S.78)

USA:

In vielen Aspekten ist die Situation ähnlich wie in Deutschland: Die lebenslange Wahrscheinlichkeit einer Brustkrebserkrankung liegt bei 12,3% (1 : 8) (Rojas and Stuckey, 2016). Der Brustkrebs ist das häufigste Karzinom der Frau. Die Inzidenz hat in der letzten Beobachtungsperiode von 2012-2016 jährlich um 0,3% zugenommen (DeSantis et al., 2019). Die Mortalität des Mammakarzinoms nahm von 1975 bis 1990 durchschnittlich um 0,4% pro Jahr zu, seit 1990 lässt sich eine jährliche Abnahme zwischen 1,8% und 3,4% pro Jahr beobachten. Die Autoren führen dies sowohl auf das Mammographie-Screening als auch auf die Verbesserung der Behandlung zurück (Hendrick et al., 2019). Deutliche Unterschiede finden sich bei der Betrachtung von Subgruppen mit unterschiedlicher Hautfarbe („black-white disparity“). Hier besteht seit über drei Dekaden eine 40% höhere Mortalitätsrate bei dunkelhäutigen Frauen. Auch in dieser Gruppe hat sich die Mortalitätsrate verbessert, der Unterschied ist jedoch gleichgeblieben (DeSantis et al., 2019).

2.2 Risikofaktoren und Prävention des Mammakarzinoms

2.2.1 Beeinflussbare Lebensstilfaktoren

Diese sind zum einen Risikofaktoren, zum anderen spielen sie eine Rolle in der Prävention zur Vermeidung einer Brustkrebserkrankung und in der Tumornachsorge zur Vermeidung eines Tumorrezidivs.

Ein hormoneller Einfluss auf das Risiko eines Mammakarzinoms besteht bei einer frühen Menarche, einer späten Menopause, einer niedrigen Geburtenzahl und einer kurzen Stillzeit, welche alle die hormonaktive Zeit im Leben einer Frau beeinflussen (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, 2002). Eine postmenopausale Hormonersatztherapie (HRT) ging in der WHI Studie mit einer erhöhten Brustkrebsinzidenz einher (Chlebowski et al., 2003). Seit ihrer Veröffentlichung gibt es zahlreiche Publikationen zu dieser Fragestellung. Die aktuelle Leitlinie „Peri- und Postmenopause – Diagnostik und Interventionen“ (Leitlinienprogramm AWMF 2020) zitiert und bewertet zu dieser Fragestellung 50 Publikationen. Die Konklusion lautet: „dass eine HRT mit einem erhöhten Brustkrebsrisiko verbunden sein kann. Die Risikoerhöhung ist allerdings gering und muss aber in die Nutzen-Risiko-bewertung bei der Behandlung klimakterischer Symptome mit einer HRT einbezogen werden“.

Eine Adipositas mit einem BMI von über 30 kg/m² erhöht das Risiko einer Brustkrebserkrankung (Renehan et al., 2008). Sie führt ebenfalls zu einer häufigeren Fernmetastasierung, einem erhöhten Sterblichkeitsrisiko (Ewertz et al., 2011) sowie einem erhöhten Risiko für ein posttherapeutisches Fatigue-Syndrom (Voskuil et al., 2010).

Weitere Einflüsse von sog. Lebensstil-Faktoren wie Ernährung, körperlicher Aktivität aber auch von Vitaminen und Nahrungsergänzungsmitteln finden sich in den fortlaufenden Publikationen („continuous update project“) des American Instituts for Cancer Research, publiziert über den World Cancer Research Fund (World Cancer Research Fund American Institute for Cancer Research 2007, World Cancer Research Fund American Institute for Cancer Research Continuous Update Project 2020). Während Alkohol, Rauchen und hohes Körpergewicht Ursachen für Krebserkrankungen sind, stellen körperliche Aktivität und Verzehr von nicht-stärkehaltigem Gemüse und Obst sowie fleischarmer und zuckerarmer Ernährung Präventionsmaßnahmen dar.

2.2.2 Nicht beeinflussbare Risikofaktoren

Zu den nicht beeinflussbaren Risikofaktoren gehören das Geschlecht (weiblich) und ein zunehmendes Alter (vergl. Kapitel Epidemiologie, S. 13).

In diese Gruppe gehören auch Veränderungen des Brustgewebes. Einer der wichtigsten unabhängigen Parameter ist eine erhöhte mammographische Brustdichte, die insbesondere bei postmenopausalen Frauen eine Rolle spielt (Fasching et al., 2011). Diese kann bei postmenopausalen Frauen eine dreifache Risikosteigerung implementieren (Heusinger et al., 2011). Weitere mammäre Faktoren sind ein Zustand nach Biopsie einer Krebsvorstufe, einer atypischen Hyperplasie oder eines Karzinoms der Gegenseite (Kaufmann et al., 2012)(S. 638).

2.2.3 Bedingt beeinflussbare Risikofaktoren

Hierzu gehören Umweltfaktoren, die nur eingeschränkt vermeidbar sind. Nationale epidemiologische Studien gehen davon aus, dass 65-85% der Brustkrebsfälle in diese Gruppe fallen (Verkasalo et al., 1999). Solche Faktoren sind (Coyle, 2004): Eine Belastung durch Bestrahlung, wie Höhenstrahlung (z.B. auf Flugreisen), elektromagnetische Felder, radiologische und strahlentherapeutische Behandlungen (z.B. Mammographie) sowie Kernenergietechnik und natürliche Strahlungsquellen (Radonbelastung in Gebäuden, Radioisotope im Tabakrauch). Weiterhin gibt es chemische Mutagene und Tumorpromotoren wie Pestizide (DDT), PCB und organische Lösungsmittel. Metalle wie Cadmium oder Chrom können in den Östrogen-Stoffwechsel eingreifen. Letztlich werden auch Störungen des circadianen Rhythmus, etwa durch Nacht- oder Schichtarbeit mit einem leicht erhöhten Risiko in Verbindung gebracht.

Ein Einfluss von spezifischen Risikofaktoren auf den molekularen Subtyp eines Mammakarzinoms konnte nachgewiesen werden. Beispielsweise fanden sich bei der Anamnese einer HRT gehäuft Mammakarzinome mit dem Nachweis von Östrogen- und Progesteronrezeptoren (Wunderle et al., 2019).

2.2.4 Familiäres Mammakarzinom

Durch genetische Analysen in Familien mit gehäuften Fällen von Brust- und Eierstockkrebs wurden 1990 und 1995 zwei krebsassoziierte Genmutationen beschrieben und *BRCA1* (auf Chromosom 17q21) und *BRCA2* (auf Chromosom 13q12) benannt (Hall et al., 1990), (Wooster et al., 1994). Das Erkrankungsalter von Frauen mit diesen Hochrisiko-Genmutationen liegt etwa 20 Jahre früher als bei Gesunden. Sie haben ein lebenslanges Risiko von etwa 60% an einem Mammakarzinom und 16-55% an einem Ovarialkarzinom zu erkranken (Mavaddat et al., 2010). Durch neuere molekulargenetische Untersuchungen an betroffenen Familien konnten weitere Risikogene wie

CHEK2, *PALB2*, *TP53* und *RAD51C* identifiziert werden (Übersicht: (Fasching et al., 2011)).

Um einheitliche Beratungs- und Behandlungskriterien zu etablieren und eine gemeinsame Datenbasis für wissenschaftliche Untersuchungen zu generieren wurde in Deutschland ein flächenhafter Verbund universitär angebundener Zentren für Familiären Brust und Eierstockkrebs (FBREK) geschaffen (Netzwerk Familiärer Brust- und Eierstockkrebs, vergleiche Homepage FBREK-Zentrum der UM Mainz). Hauptkooperationspartner in diesen zertifizierten Zentren sind Humangenetische Institute, Brustzentren, Gynäkologische Krebszentren sowie Institute für Diagnostische und Interventionelle Radiologie. Neben Risikoermittlung, Beratung und Gendiagnostik stehen für Betroffene auch eine intensiviertere Früherkennung und Nachsorge sowie prophylaktische Operationen zur Verfügung.

2.2.5 Sekundärprävention

Die Leitlinie Mammakarzinom empfiehlt das Angebot einer klinischen Untersuchung der Brust mit Inspektion, Palpation und Beurteilung der Lymphabflusswege ab dem 30. Lebensjahr im Rahmen der gesetzlich möglichen Früherkennungsuntersuchungen (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 51).

An apparativen Untersuchungen stehen in der Sekundärprophylaxe die Mammasonographie und die Mammographie zur Verfügung. Die Mammographie ist die einzige Methode, die zu einer Reduktion der Brustkrebsmortalität führt. Als alleinige Methode zur Brustkrebs-Früherkennung wird jedoch die Mammasonographie nicht empfohlen (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 46/52), sie sollte daher durch regelmäßige Mammographien ergänzt werden.

2.2.6 Mammographie Screening

In Deutschland wurde zwischen 2005 und 2009 ein qualitätsgesichertes Mammographie-Screening-Programm etabliert. Die lange Zeitspanne der Einführung erklärt sich dadurch, dass das Personenstandsgesetz in den verschiedenen Bundesländern zunächst geändert werden musste. Seither wird jede Frau zwischen 50 und 69 Jahren alle zwei Jahre zum Mammographie-Screening eingeladen.

In den „*European guidelines for quality assurance in breast cancer screening and diagnosis. Fourth edition-summary document*“ (Perry et al., 2008) sind die Prinzipien,

Schwerpunkte und Standards des Mammographie Screenings in 12 Kapiteln zusammengefasst, die von mehr als 200 Autoren bearbeitet und in der Langversion in einem mehr als 400-seitigen Dokument publiziert wurden:

Zielsetzung des Screening-Programms ist eine Reduktion der Brustkrebsmortalität durch frühe Detektion (S. 614). Das Screening und die Behandlung von symptomatischen Patientinnen sollen getrennt erfolgen (S. 615). Diagnostik und Therapie werden von multidisziplinären Expertenteams durchgeführt. Das Training, die physikalisch-technischen und apparativen Voraussetzungen sowie die Befundungsroutinen sind ebenfalls im Programm vorgeschrieben (S. 616/617) und werden qualitativ überprüft.

In gleicher Weise werden die spezialisierten Brustzentren mit allen Behandlungspartnern (radiologische Diagnostik, Pathologie, Brustoperationen und Onkologie) spezifiziert.

In Deutschland wurde ein vergleichbares Programm in Form einer Richtlinie des Gemeinsamen Bundesausschusses über die Früherkennung von Krebserkrankungen 2009 etabliert, an dem die entsprechenden Fachgesellschaften mitgearbeitet haben (Senologie und Krebsgesellschaft). Der Nutzen des Screenings wurde in verschiedenen Stellungnahmen diskutiert, bzw. geriet insbesondere wegen Überdiagnosen in den Fokus der Kritik (EUROSCREEN working group)(Paci, 2012). Unter „Überdiagnosen“ versteht man in diesem Zusammenhang Operationen, z.B. wegen einer Karzinomvorstufe oder eines kleinen, wenig aggressiven Karzinoms, die im Lebenszeitraum der Betroffenen nicht als klinisches Karzinom in Erscheinung getreten wären. Daraufhin hat das Institut für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen (IQWiG) 2016 im Auftrag des Gemeinsamen Bundesausschusses eine Nutzen-Schadens-Bilanz für das deutsche Programm vorgelegt. Das IQWiG schätzte damals aus der Literaturanalyse eine Bilanz von ein bis zwei geretteten Leben gegenüber fünf bis sieben Überdiagnosen pro 1000 eingeladen Frauen (Fügemann and Kääb-Sanyal, 2016).

Eine Auswertung der Operationsverfahren von rund 920 000 Brustoperationen seit 2009 in Deutschland konnte zeigen, dass solche „Überdiagnosen“ überwiegend bei den In-situ-Karzinomen auftraten. Es zeigte sich daneben ein stetiger Rückgang der Brustamputationen bei Frauen über 50 Jahren zugunsten von brusterhaltenden Verfahren (Stang and Kääb-Sanyal, 2019).

Als Weiterentwicklung der konventionellen Mammographie hat sich die 3D-Mammographie (digitale Brust-Tomosynthese) etabliert. In systematischen Reviews (Hodgson et al., 2016) zeigte sich eine Verbesserung der Sensitivität bei hoher Spezifität, sodass diese Methode als vielversprechend für eine Weiterentwicklung des Screenings gewertet wird (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 50).

2.3 Diagnostik des Mammakarzinoms

Klinisch auffällige Befunde sollen weiter abgeklärt werden. Die American Cancer Society empfiehlt die Mammographie ab dem 40. Lebensjahr wegen ihrer guten Sensitivität und der hohen Treffsicherheit (Oeffinger et al., 2015). An Zusatzuntersuchungen ist die digitale Tomosynthese den früher üblichen Kompressionsverfahren überlegen (Morel et al., 2014). Wird in der Mammographie ein verdächtiger Herdbefund lokalisiert, ist die Empfehlung der Leitlinie (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020) eine Ultraschalluntersuchung und die sonographisch gesteuerte Stanzbiopsie (S. 73). Mammographisch unklare Befunde können in besonderen Situationen (Vernarbungen, multiple Befunde, Ausdehnung) auch mit einer Kontrastmittel-MRT abgeklärt werden (S. 72). Auch die Ultraschalluntersuchung bietet, insbesondere mit Zusatzuntersuchungen wie Densitometrie und Dopplersonographie, hilfreiche Funktionen zur Abklärung unklarer Befunde (S. 73). Daneben dient die Ultraschalluntersuchung auch der weiteren Abklärung der Lymphknoten, die bei entsprechender Fragestellung (z.B. bei neoadjuvanter Therapie) (S. 41) ebenfalls biopsiert und markiert werden können.

Histologische Abklärung

Liegt ein auffälliger oder tumorsuspekter Befund in der Mammadiagnostik vor, empfiehlt die Leitlinie (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020):

Eine histologische Untersuchung soll durch eine Stanzbiopsie erfolgen, nur „in zu begründenden Ausnahmefällen durch eine offene Exzisionsbiopsie“ (S. 76). Bei sicherer sonographischer Darstellung ist die Lokalisation per Ultraschall die Methode der Wahl (S. 76). Ansonsten soll die Bildgebung erfolgen, die den Befund eindeutig darstellt (z.B. Vakuum-Stanzbiopsie bei suspektem Mikrokalk in der Mammographie (S. 77)). Axilläre Lymphknoten können ebenfalls durch sonographisch gesteuerte Stanzbiopsie abgeklärt werden. Bei nicht-tastbaren Veränderungen wird eine Markierung, z.B. durch Clip-

Einlage, empfohlen (S. 76). Ist im Verlauf der Behandlung eine therapeutische Resektion indiziert, kann eine Clip-Markierung für eine Drahtmarkierung genutzt werden (S. 79).

Die Stanzbiopsie erlaubt neben der Dignitätsbeurteilung auch die Bestimmung „prätherapeutisch notwendiger tumorbiologischer Faktoren“ (Tumortyp, Malignitätsgrad, Hormonrezeptorstatus, Her2/neu-Status, Tumorproliferationsrate, etc.), die für die weitere individualisierte Therapieplanung essentiell sind (S. 79).

Ganzkörperdiagnostik

Eine Staging-Untersuchung soll nur bei Tumoren mit höherem Metastasierungsrisiko (nodalpositiv, FIGO-Stadium III und IV, aggressiver Tumortyp) oder klinischen Symptomen durchgeführt werden (Department of Health Guideline Development Group, 2015) (S. 9). Die Prävalenz von Fernmetastasen liegt im Stadium I bei 0,2%, im Stadium II bei 1,2% (Brennan and Houssami, 2012). Ist ein Staging indiziert, sollte dies mittels kontrastverstärkter Computertomographie von Thorax, Abdomen und Becken erfolgen sowie ein Ganzkörper-Knochenszintigramm beinhalten. Ein routinemäßiges PET/CT ist nicht indiziert (Department of Health Guideline Development Group, 2015) (S. 9).

2.4 Prognostische und prädiktive Faktoren

Dies sind Merkmale, die mit der Häufigkeit eines Rezidivs der Brustkrebserkrankung nach abgeschlossener Ersttherapie assoziiert sind. Es gelten folgende Definitionen (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2017):

„Ein prognostischer Faktor ist ein Parameter, der... z.B. bei Erstdiagnose vorliegt und, sofern keine weitere Therapie erfolgt, mit dem krankheitsfreien oder dem Gesamtüberleben d.h. mit dem natürlichen Krankheitsverlauf korreliert“.

„Ein prädiktiver Faktor ist ein Parameter, der das Ansprechen auf eine bestimmte Therapie definiert“.

Manche dieser Eigenschaften sind mit dem zeitlichen Verlauf korreliert, beispielsweise wird jeder bösartige Tumor im Laufe der Zeit größer und bildet bis auf wenige Ausnahmen Metastasen. In anderen Fällen können prognostische Faktoren gleichzeitig auch prädiktive Faktoren sein. Beispielsweise ist der Nachweis von Östrogenrezeptoren ein prognostisch günstiges Merkmal, denn solche Tumoren zeigen in der

Regel ein Ansprechen auf eine endokrine Therapie. Einige dieser Faktoren stammen aus der Frühzeit der mikroskopischen pathologischen Diagnostik, z.B. der histologische Malignitätsgrad („Grading“), andere können nur mit modernsten genetischen Methoden evaluiert werden, z.B. eine *BRCA*-Mutation.

Folgende prognostische oder prädiktive Faktoren sollen laut Leitlinie klinisch, histopathologisch oder labormedizinisch bestimmt werden (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 108-117) (Tab. 1):

Tabelle 1: Klinische, pathologische und labormedizinische Tumormerkmale

Merkmal	Gruppen	Bedeutung
Alter	<35 Jahre / > 60 Jahre	Prognose / AZ
Menopausenstatus	prämenopausal / postmenopausal	endokrine Therapie
histologischer Tumortyp		Prognose
Malignitätsgrad	G1 / G2 / G3	Prognose
TNM-Stadium		Tumorausdehnung
Resektionsrand	R0 / R1	Chirurgischer Operationsstatus
Lymphgefäßinvasion	ja / nein	Prognose
Blutgefäßinvasion	ja / nein	Prognose
Hormonrezeptoren (E / P)	IRS 0 / IRS 1-12)	Prognose / Therapie
Tumorproliferation	0-20% / >20%	Prognose / Chemotherapie
HER2	Score 0 / + / ++ / +++	Prognose / spez. Therapie

Intrinsischer Tumortyp	Luminal A / Luminal B / HER2 überexprimiert / triple- negative / basaloid	Prognose / Therapie
Multigentest	Risikoscore	Therapie bei unklarem Aggressionspotential
Genetisches Risiko	Checkliste Score	genetische Beratung
UPA/PAI-1 (Empfehlung zurückgezogen)	low / high	Prognose

Alter

Das Erkrankungsalter ist ein unabhängiger Prognosefaktor der Brustkrebserkrankung. Patientinnen unter 35 Lebensjahren haben eine ungünstige Prognose (de la Rochefordiere et al., 1993). Auch mit zunehmend höherem Alter (> 60LJ) verschlechtert sich die Prognose (Kaufmann et al., 2012)(S. 638).

Menopausenstatus

Dieser besitzt eine Bedeutung für die endokrine Therapie (Siehe Kap. 2.7.2). In westlichen Nationen liegt das Menopausenalter durchschnittlich bei etwa 51 Jahren. Ist die Situation unklar, z.B. bei Z.n. Hysterektomie, ist eine Einteilung mittels Hormonanalysen möglich (Noss and Ortmann, 2012)(S. 80).

Histologischer Tumortyp

Die lichtmikroskopische Einteilung des Tumortyps wird in der pathologischen Routinebegutachtung vorgenommen, da unterschiedliche Subtypen eine unterschiedliche Prognose aufweisen (Rosen et al., 1993). Tubuläre, papilläre und muzinöse Subtypen gelten als prognostisch günstig, atypisch-medulläre als ungünstig (Fisher et al., 1990). Mehr als 50% der Tumoren fielen in dieser Studie in die Gruppe „NOS“ (not otherwise specified), je zur Hälfte als reiner oder Mischtyp. Reine NOS-Typen („solid-ductal“) hatten eine eher schlechtere Prognose, NOS-Mischtypen und lobuläre Karzinome waren intermediär.

Malignitätsgrad

Laut aktueller Leitlinie soll der Malignitätsgrad nach der Methode von Elston und Ellis bestimmt werden (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft;

Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 109). Diese ist eine Präzisierung des davor üblichen Gradings nach Bloom und Richardson, welches im vorliegenden Kollektiv angewendet wurde. Es kombiniert eine Score-Bewertung von drei Merkmalen (Elston and Ellis, 2002)(Tab. 2):

Tabelle 2: Kriterien des Gradings nach Elston und Ellis

Merkmale	Kriterien	Score	
Tubulusausbildung	> 75%	1	
	10 - 75%	2	
	< 10%	3	
Kernpolymorphie	gering	1	
	mittelgradig	2	
	stark	3	
Mitoserate (High Power Field)	0-5 / 10 HPF	1	
	6-11 / 10 HPF	2	
	> 12 / 10 HPF	3	
Scoresumme			
Scoresumme	Malignitätsgrad	Gruppe	Definition
3,4,5	gering	G1	gut differenziert
6,7	mäßig	G2	mäßig differenziert
8,9	hoch	G3	gering differenziert

Da der Malignitätsgrad eine lichtmikroskopisch bestimmbare Methode ist, konnte er bereits im Jahr 1957 in die Routine der Pathologie aufgenommen werden (Bloom and Richardson, 1957). Ein neueres systematisches Review an fast 162 000 malignen Mammatumoren zeigte jedoch, dass seine Wertigkeit in der Vorhersage von Gesamt- und rezidivfreiem Überleben unabhängig von Tumorgröße und Lymphknotenbefall liegt (Schwartz et al., 2014). Da die Übereinstimmung des Gradings zwischen Stanzbiopsie und Operationspräparat nicht sehr gut ist (kappa-Wert 0,35-0,65) (Rakha and Ellis, 2007), sollte die Bestimmung am Operationspräparat wiederholt werden.

Stadieneinteilung (TNM)

Das TNM-System dient zur Beurteilung der Tumorausdehnung. Es wurde ursprünglich in Frankreich entwickelt und wird daher von der französischen *Union internationale contre le cancer* ([UICC](#)) periodisch herausgegeben und für einzelne Tumoren immer wieder aktualisiert (Wittekind, 2020). Die drei wichtigsten Kategorien entsprechen den Buchstaben:

- **T** = Tumor, betrifft die Ausdehnung und das invasive Verhalten des Primärtumors
- **N** = Nodus (lateinisch Nodus lymphaticus = Lymphknoten), betrifft das Fehlen oder den Nachweis von regionären Lymphknotenmetastasen
- **M** = Metastasen, beschreibt das Fehlen oder den Nachweis von Fernmetastasen

Zusatzbuchstaben stehen für Zusatzkriterien wie **p** = Klassifikation durch Pathologiebefund im Unterschied zu **c** = klinischer Befund, **y** = Zustand nach vorausgegangener (präoperativer) Therapie oder **r** = Rezidivtumor. Zunehmende Zahlen stehen für eine progrediente Tumorausdehnung.

In der gynäkologischen Onkologie wird regelhaft ein eigenes Klassifikationssystem der Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique (**FIGO**) benutzt. Im deutschen gynäkologischen Sprachraum wird standardmäßig das TNM-System benutzt (streng genommen ist auch das Mammakarzinom kein „gynäkologischer“ Tumor und wird in vielen Ländern von Chirurgen oder Onkologen behandelt). Trotzdem wird in englischsprachigen Publikationen auch das FIGO-Stadium verwendet, so dass aus Gründen der Vollständigkeit beide Stagingssysteme dargestellt werden (Tab. 3):

Tabelle 3: Vergleich von FIGO-Stadium und TNM-Stadium (UICC)

FIGO-Stadium	Primärtumor T	Lymphknotenstatus N	Fernmetastasen M
0	Tis	N0 (keine)	M0
I	T1mic	N0	M0
	T1a (1 – 5 mm)	N0	M0
	T1b (6 – 10 mm)	N0	M0

	T1c (11 – 20 mm)	N0		M0
IIA	T0, T1mic, T1	N1 (1-3 LK in der Axilla und/oder der ipsilateralen Mammaria-Interna-Region)		M0
	T2 (21- 50 mm)	N0		M0
IIB	T2	N1		M0
	T3 (≥51 mm)	N0		M0
IIIA	T0, T1mic, T1, T2	N2 (4-9 LK in der Axilla)		M0
	T3	N1		M0
IIIB	T4 (Infiltration der Brustwand und/oder der Haut, und/ oder ipsilaterale Satellitenmetastasen und/oder inflammatorisches Mammakarzinom)	N0 – 2		M0
IIIC	alle T	N3 (≥10 LK n der Axilla und/oder Befall infra- oder supraklavikulärer LK)		M0
IV	alle T	alle N		M1 (Metastasen außerhalb der Brust und der benachbarten LK-Regionen)

Das Tumorstadium ist ein klassischer Prognosefaktor (Bundred, 2001). Da es wenig zu einer individualisierten Therapie beiträgt, wird es heute eher als Tumorausdehnungsparameter gesehen.

Resektionsrand

Die Beurteilung des Resektionsrandes mit Angabe der Sicherheitsabstände in allen Raumrichtungen wird ebenfalls von der Pathologie erwartet. Da ein Befall des Schnittrandes mit einer erhöhten Rate an Lokalrezidiven einhergeht (Houssami et al., 2014), soll der Operateur überprüfen, ob eine lokale Nachresektion möglich ist. Im Lauf der Jahre wurde die Breite des minimalen freien Randes immer wieder herabgesetzt. Bei der Aufarbeitung von Operationspräparaten werden die Schnittränder mit farbiger Tusche markiert. Derzeit gilt „no ink on tumor“ als ein ausreichender Resektionsrand (Moran et al., 2014).

Lymphgefäß- und Blutgefäßinvasion

Eine Übersichtsarbeit an fast 44 000 Karzinomfällen konnte zeigen, dass ein Einbruch in Lymphgefäße relevant für das Gesamtüberleben ist (Gujam et al., 2014). Die Situation für eine Blutgefäßinvasion war nicht so eindeutig, zum einen, da die Bestimmungshäufigkeit seltener war, zum anderen die Frage nicht entschieden werden konnte, ob die Aussage besser durch eine lichtmikroskopische Untersuchung oder eine immunhistochemische Spezialfärbung durchgeführt werden sollte.

Hormonrezeptoren

Üblicherweise wird in Deutschland die Bestimmung der Östrogen- und Progesteronrezeptoren anhand einer immunhistochemischen Reaktion und lichtmikroskopischen Auswertung des immunreaktiven Scores (IRS) bestimmt und ist in den Leitlinien empfohlen (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 111). Diese Methode wurde von Remmele und Stegner (Remmele and Stegner, 1987) vorgeschlagen als ein Produkt aus der Anzahl positiver Tumorzellen und der Färbeintensität (Tab. 4):

Tabelle 4: Immunreaktiver Score der Hormonrezeptoren (Remmele & Stegner)

Prozentsatz positiver Zellkerne (PP)		Färbeintensität (FI)		Score
Keine	0 Punkte	Keine Reaktion	0 Punkte	PP x FI = IRS
< 10 %	1 Punkt	schwache Reaktion	1 Punkt	
10 - 50 %	2 Punkte	mäßige Reaktion	2 Punkte	

51 - 80 %	3 Punkte	starke Reaktion	3 Punkte	(0 - 12 Punkte)
> 80 %	4 Punkte			

Dementsprechend kann der IRS Werte zwischen 0 und 12 annehmen. In klinischen Studien hinsichtlich der Ansprechrate zeigte sich bereits eine (schwache) Wirksamkeit der endokrinen Therapie bei 1 % positiven Tumorzellen (Hammond et al., 2010), was einem IRS von 1 entspricht. Die Leitlinie gibt zum einen interne und externe Qualitätsanalysen vor, z.B. in Form von standardisierten Protokollen und Ringversuchen (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 112) zum anderen definiert sie zahlreiche Kriterien, in denen eine Wiederholung empfohlen wird, wie z.B. bei nicht-optimaler Fixation des Gewebes (S. 113). Auch sind manche histologischen Tumortypen in aller Regel rezeptorpositiv, wie tubuläre oder muzinöse Tumoren. Hier sollte ein negativer Test ebenfalls wiederholt werden.

Die Bestimmung der Hormonrezeptoren hat sich in Reviews als wichtiger Faktor in der endokrinen Therapie früher Brustkrebsfälle (Freedman et al., 2015) wie auch in neoadjuvanten Studien (von Minckwitz et al., 2011) erwiesen. Hier wird auf das entsprechende Kapitel verwiesen (Kap 2.7.2).

Tumorproliferation

Die lichtmikroskopisch ausgezählte Mitoserate ist ein Bestandteil der Bestimmung des Malignitätsgrades.

1983 wurde in Kiel der murine monoklonale Antikörper Ki-67 entwickelt, der spezifisch alle proliferierenden Zellen markiert (d. h. Zellen außerhalb der G0-Phase) (Gerdes et al., 1983). Mittels einer immunhistochemischen Reaktion war eine Auszählung von proliferierenden Zellen anhand der Färbereaktion möglich. Eine Publikation aus der histopathologischen Abteilung der Mainzer Universitäts-Frauenklinik konnte die sog. Wachstumsfraktion als unabhängig von Tumorstadium und Lymphknotenbefall zeigen. Weiterhin ergab sich eine statistisch signifikante Abhängigkeit zum rezidivfreien Überleben (Weikel et al., 1991). Während Ki-67 nur am Frischmaterial verwendbar war, wurde 1992 der gegen das gleiche Epitop gerichtete Antikörper MIB-1 vorgestellt, der eine gleichwertige Reaktion an Frischmaterial, aber auch an mikrowellen-behandeltem Paraffinmaterial möglich machte (Cattoretti et al., 1992). Hiermit waren am pa-

raffineingebetteten Tumorgewebe auch größere Kollektive retrospektiv auswertbar. Daher wurde die Untersuchung mit diesem Antikörper zum Standardverfahren.

Obwohl ein Zusammenhang zwischen der Ki-67-Proliferationsrate und der Prognose in zahlreichen Studien gezeigt werden konnte, wurde seine Bestimmung in den aktuellen Leitlinien („Clinical practice“) der American Society of Clinical Oncology (ASCO) (Harris et al., 2016) nicht empfohlen. Vorausgegangen war die Problematik, dass in zahlreichen Arbeitsgruppen unterschiedliche Bestimmungsmethoden, verschiedene Grenzwertdefinitionen und eine schlechte inter-observer-Reproduzierbarkeit vorlag (Yerushalmi et al., 2010). Einzelne Studien konnten jedoch einen Grenzwert von 14% als relevant erarbeiten (Cheang et al., 2009). Neuere Analysen wiesen durch ein standardisiertes Vorgehen in einer internationalen Gruppe (23 Pathologien in 12 Ländern) eine bessere Reproduzierbarkeit nach (Leung et al., 2019). Auch eine Metaanalyse von fast 62 000 Patienten aus 41 Studien (Petrelli et al., 2015) zeigte eine hochsignifikant schlechtere Prognose bei Tumoren mit hohem Ki-67. Daten aus einem großen deutschen Krebsregister mit fast 4700 Patientinnen stützen diese Untersuchungen (Inwald et al., 2013).

In einer neueren Studie (Plan B Trial) konnte der Nutzen einer Chemotherapie bei Frauen mit hoch-proliferierenden rezeptorpositiven- und HER2-negativen Mammakarzinomen gezeigt werden (Gluz et al., 2016).

Die aktuelle Leitlinie (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020) bezeichnet „Ki-67 als einen kontinuierlichen Marker der Proliferationsaktivität. Bei einer Ki-67 Positivität von $\geq 20\%$ kann von einem erhöhten Risiko ausgegangen werden“ (S. 120). „Die Hinzunahme von Ki-67 zu den konventionellen Prognosefaktoren...verbessert bei ER-/PR-positiven und HER2-negativem Mammakarzinom die Entscheidung, ob eine adjuvante Chemotherapie durchgeführt werden soll“ (S. 119).

HER2

HER2 ist die mittlerweile geläufige Kurzschreibweise für „human epithelial growth factor receptor 2“. Synonyme sind ERB-B2, erb-B2, c-erb-B2 und HER-2/neu. HER2 gehört zur Familie der „epidermal growth factor receptors“ (EGF-Rezeptoren). Eine Amplifikation des *HER-2/neu*-Gens führt zu einer Überexpression des Rezeptors auf den Tumorzellen und ist verbunden mit einem kürzeren Rezidivfreien- und Gesamtüberleben (Slamon et al., 1987). Bei massiver Expression wird die Zellproliferation über

den RAS-MAP-Kinase-Weg stimuliert und über den AKT- und mTOR- Signalweg der programmierte Zelltod (Apoptose) gehemmt (Hudis, 2007). Es existieren vier verschiedene, partiell homologe, transmembrane Tyrosinkinase-Rezeptoren (HER1 - 4), die nach Dimerisierung Stoffwechselvorgänge induzieren (Abb. 3).

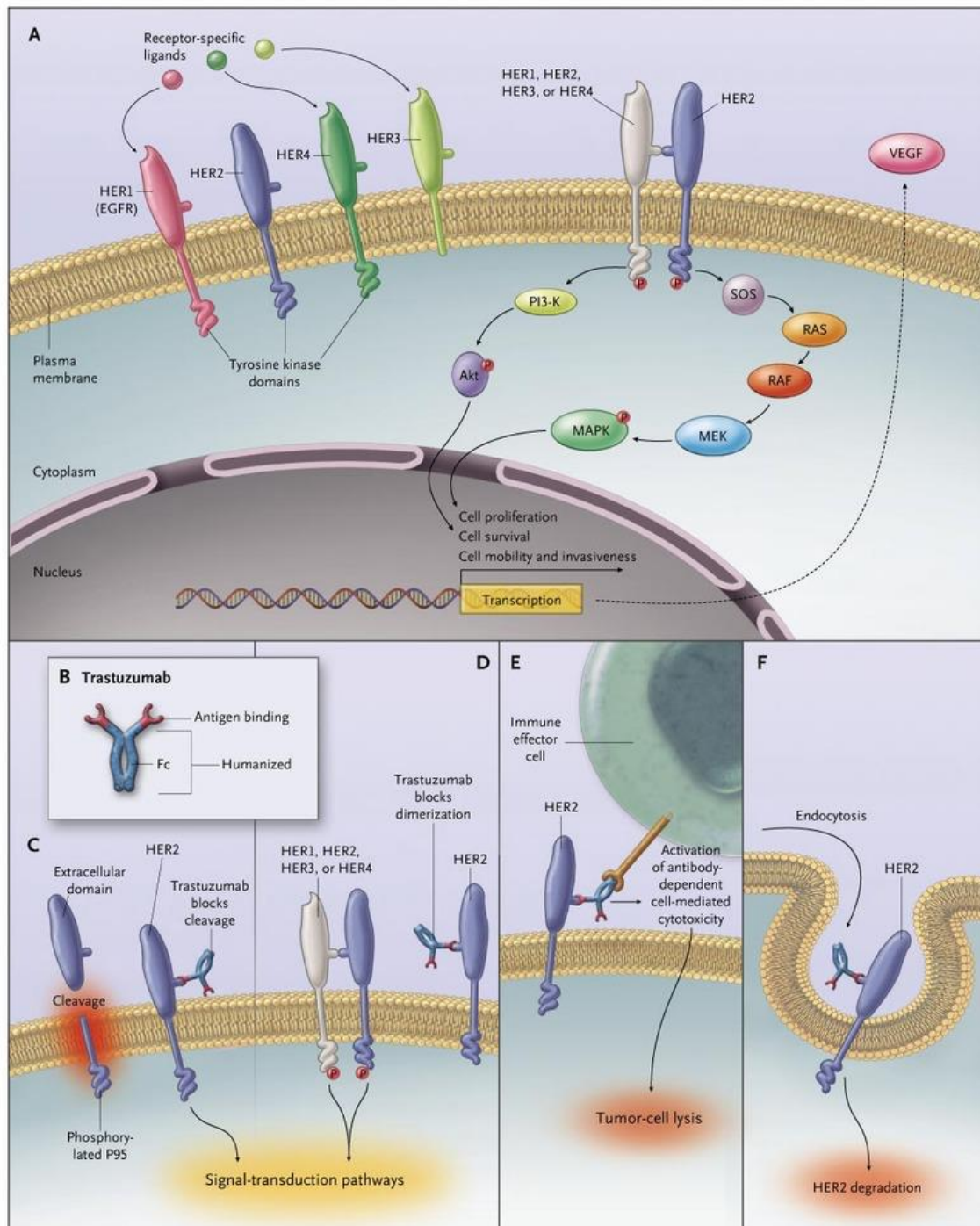


Abbildung 3: Stoffwechselwege Thyrosin-Kinase-Rezeptoren HER1 - 4
mod. nach (Hudis, 2007)

Eine HER2 Überexpression wird nach einem standardisierten Protokoll in einer immunhistochemischen Färbereaktion dargestellt und lichtmikroskopisch in 4 Kategorien ausgewertet (Tab. 5):

Tabelle 5: HER2 Auswertung (Wolff et al., 2013)

Kategorie	Definition
0	Keine Färbereaktion der invasiven Tumorzellen (TZ)
+	Schwache und inkomplette Membranreaktion in < 10% der TZ
++	Schwache und inkomplette Membranreaktion in > 10% der TZ
+++	Einheitliche und intensive Membranfärbung in > 30 % der TZ

Gegen die extrazelluläre Komponente von HER2 konnte der humanisierte monoklonale Antikörper Trastuzumab (Herceptin®) entwickelt werden, der seither in Kombination mit einer Chemotherapie zum klinischen Einsatz kommt. 2012 wurde der monoklonale Antikörper Pertuzumab (Perjeta®) zugelassen, der neben HER2 auch eine Dimerisierung von HER3 und HER4 bewirkt. Weiterhin steht der Thyroxin-Kinase-Inhibitor Lapatinib, ein „small molecule“, therapeutisch zur Verfügung. Seit 2012 ist ein Konjugat aus Herceptin mit dem Zytotoxikum Emtansin (Kadcyla®) bei fortgeschrittenem Mammakarzinom zugelassen.

Aus Wirksamkeitsanalysen der Antikörpertherapie ließ sich ermitteln, dass in den histologisch bestimmten Kategorien 0 / + kein Therapieerfolg erreicht werden konnte, in der Kategorie +++ der Antikörper jedoch wirksam war. Die Kategorie ++ verhielt sich heterogen. Die ASCO Empfehlung war daher, in dieser Kategorie eine Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) oder Chromogene-in-situ-Hybridisierung (CISH) durchzuführen. Ist dieser Test positiv, ist eine Antikörpertherapie erfolgreich (Wolff et al., 2013). Alle Untersuchungen sollen qualitätsgesichert (z.B. Ringversuche) und nach standardisierten Protokollen durchgeführt werden. Unter diesen Bedingungen liegt die Rate an positiven Mammakarzinomen bei etwa 15% (Rüschoff et al., 2017).

Intrinsische Subtypen

Mit der Möglichkeit von multiplen Gentests wurde es möglich, ein „molecular portrait“ für das Mammakarzinom zu entwickeln (Perou et al., 2000). Prat und Perou (Prat and Perou, 2009) haben die Charakteristika und Entwicklung der normalen duktaalen Zellen

der Mamma genetisch analysiert und diesen die sog. intrinsischen Subtypen und ihre Signaturen gegenübergestellt (Abb. 4):

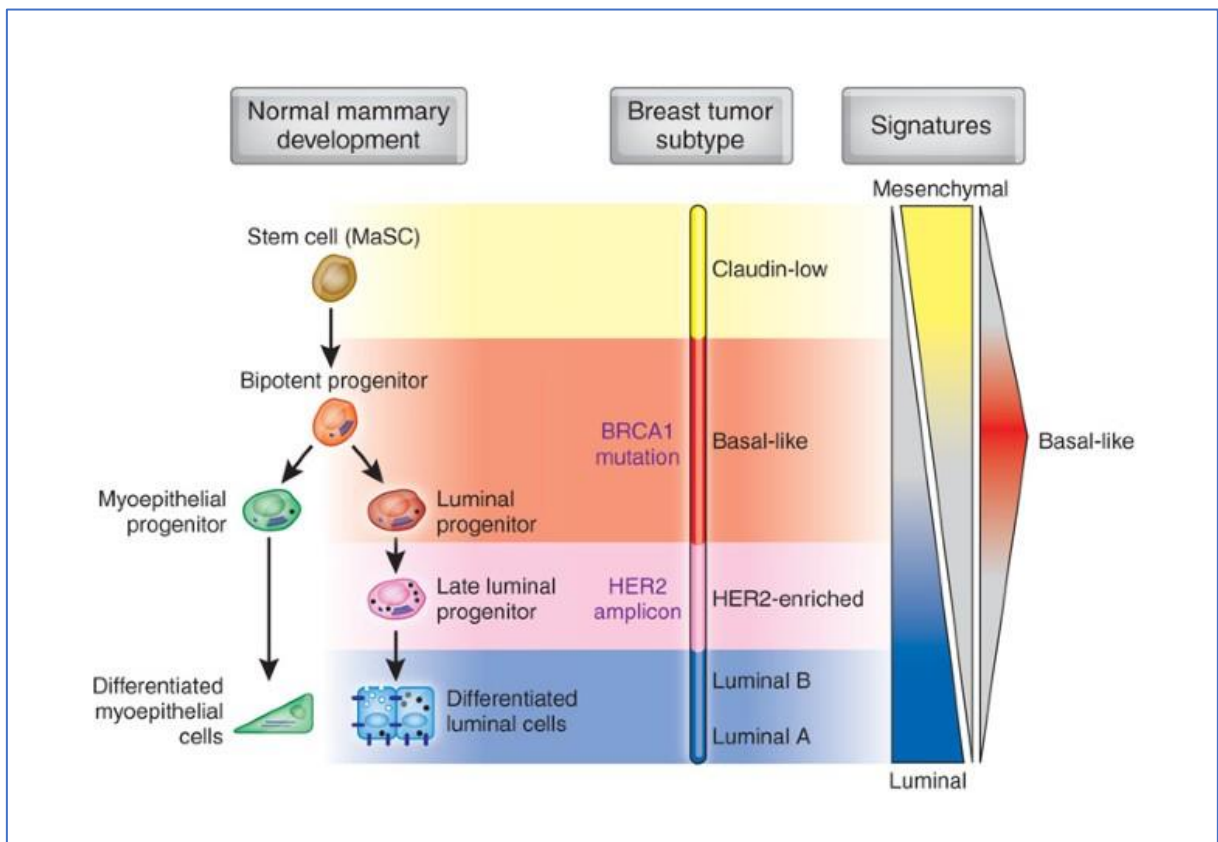


Abbildung 4: Intrinsische Subtypen des Mammakarzinoms

mod. nach (Pratt & Perou 2009)

Im weiteren Verlauf konnte gezeigt werden, dass die Definition von unterschiedlichen intrinsischen Subgruppen einen deutlichen Bezug zur Prognose hatte. Der Vergleich von Patientinnen in fortgeschrittenen Tumorstadien, die allesamt eine einheitliche Chemotherapie hatten, ergab signifikant unterschiedliche Behandlungsergebnisse (Sørli et al., 2001). In einer großen Studie (BIRC001 Trial) wurden für immunhistochemisch definierte intrinsische Subtypen deutliche prognostische Unterschiede, insbesondere für die Typen Luminal B und Basal-like (triple-negativ) nachgewiesen (Hugh et al., 2009). Das Internationale St.Gallen Expertentreffen von 2013, das sich besonders der personalisierten Therapie widmete, definierte aus den immunhistochemischen Eigenschaften folgende „Surrogat-Definitionen“ der intrinsischen Subtypen (Goldhirsch et al., 2013)(Tab. 6):

Tabelle 6: Surrogat-Definitionen der intrinsisch Subtypen des Mammakarzinoms

Intrinsic subtype	Clinico-pathologic surrogate definition	Immunohistochemical Findings
Luminal A	Luminal A-like	ER+ / PR+ / HER2 neg. / Ki-67 > 20 %
Luminal B	Luminal B-like	ER+ / PR neg. or weak / HER2 neg. / KI-67 > 20%
	Luminal B-like	ER+ / HER2 amplif. / any Ki-67 / any PR
Erb-B2 overexpression	HER2 pos. (non luminal)	HER2 amplif. ER neg. / PR neg.
Basal-like	Triple-negative	ER neg. / PR neg. / HER2 neg.

(Goldhirsch et al., 2013, St.Gallen Consensus 2013, verkürzt)

Aufgrund der klinische Behandlungsstrategien benutzt man heute eine Einteilung, welche die Subgruppe Luminal-B-like mit HER2-Amplifikation zu der Gruppe Erb-B2-overexpression rechnet (Prat et al., 2015).

Multigentests

Die Hersteller von kommerziellen Multigentests konzentrierten sich zunächst darauf, diejenigen Gene zu analysieren, welche die Synthese von bis dahin etablierten Prognosefaktoren codieren, z.B. die Gene, welche Östrogenrezeptoren codieren. Daher zeigten solche Multigentests zunächst keine deutlich besseren Aussagen wie konventionelle histopathologische Bestimmungen. Es konnten jedoch im Verlauf für alle Gentests eindeutige numerische Grenzwerte ermittelt werden.

Die aktuelle Leitlinie stellt in den Vordergrund, dass zwar viele Patientinnen von einer adjuvanten Chemotherapie profitieren, es jedoch auch eine „nicht unerhebliche“ Zahl an „potentiell langfristig lebensqualitätseinschränkenden Nebenwirkungen“ gibt (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 124). Daher spielen Multigentests neben den klassischen Prognosefaktoren eine zunehmende Rolle in der individualisierten Risikoeinschätzung eines Tumors (Schmidt et al., 2016), insbesondere auch mit dem Ziel, „Chemotherapie einzusparen“.

In einem Review von 123 randomisierten adjuvanten Studien an etwa 100 000 Patientinnen mit unterschiedlichen Chemotherapieverfahren bei frühem Mammakarzi-

nom zeigte sich, dass Patientinnen mit niedrigem Risiko auch nur bedingt von einer Chemotherapie profitieren (Peto et al., 2012).

Von den am häufigsten verwendeten Multigentests wurden drei ausführlich am frühen hormonrezeptorpositiven Mammakarzinom evaluiert (EndoPredict[®], MammaPrint[®] und Oncotype DX[®]). In retrospektiven Untersuchungen konnten alle drei Tests zeigen, dass sie Patientinnen einer Niedrigrisikogruppe mit einer rein endokrinen Therapie identifizieren können (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 124). Insbesondere in der Subgruppe von rezeptorpositivem und HER2-negativem Mammakarzinom mit einem bis drei befallenen Lymphknoten konnten Multigentests Entscheidungshilfen liefern (Krop et al., 2017). Das Deutsche Institut für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen (IQWiG), das maßgeblich für die Zulassung der Tests zuständig ist, kam jedoch wegen unzureichender Datenlage nicht zu einer positiven Empfehlung (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 126). Die Leitlinie diskutierte diese negative Empfehlung anhand von weiteren Studien, es kam jedoch in der Abstimmung des Leitliniengremiums nicht zu einer mehrheitlichen Empfehlung (S. 127). Neuere Studien konnten nachweisen, dass der EndoPredict[®]-Test (EPclin) bei einem Drittel der Patientinnen zu wesentlichen Therapieänderungen führte (Almstedt et al., 2020). Nach weiteren Studienanalysen wurden im Oktober 2020 neben Oncotype DX[®] auch EndoPredict[®], MammaPrint[®] und Prosigna[®] vom Gemeinsamen Bundesausschuss (G-BA) zugelassen (Gemeinsamer Bundesausschuss (G-BA), 2020).

Genetisches Risiko (familiäre Brustkrebserkrankung)

Zur Bewertung eines genetischen Risikos für eine familiäre Brustkrebserkrankung gibt es einen Kriterienkatalog des Deutschen Konsortiums für Familiären Brust- und Eierstockkrebs (FBREK) (Kast et al., 2016). Dieser besteht aus einer langen Liste möglicher familiärer Konstellationen. Überschaubarer und damit für die klinische Routine einfacher ist eine Zusammenfassung zu einer Checkliste (Abb. 5). Da das Risiko einer erblichen Belastung bei jüngeren Betroffenen (unter 35 LJ) höher ist als bei älteren (über 50LJ), wird die Häufigkeit von Karzinomkranken mit dem Faktor eins, zwei oder drei multipliziert und Scorepunkte vergeben, die zum Schluss addiert werden. Es werden Betroffene und ihre unmittelbaren Verwandten (Schwestern/Kinder, Gruppe A) sowie Mutter und mütterliche Linie (Gruppe B) und Vater und väterliche Linie (Gruppe C) getrennt betrachtet. Ergibt sich ein Gesamtscore von größer zwei, besteht ein Risiko

von höher als 10% für eine genetische Belastung. Damit ist eine humangenetische Beratung und Untersuchung indiziert.

Zentrum Familiärer Brust- und Eierstockkrebs
 Universitätsmedizin der Johannes-Gutenberg-
 Universität Mainz



Frau Univ.-Prof. Dr. Susann Schweiger (Leitung), Gebäude 601, Langenbeckstr.1, 55131 Mainz

Checkliste zur Erfassung einer möglichen erblichen Belastung für Brust- und/oder Eierstockkrebs

_____ |_|_| . |_|_| . |_|_|_|_|

Name der Patientin / des Patienten

Geburtsdatum

A. Patientin / Patient und deren Geschwister/Kinder	Anzahl (bitte ankreuzen)	Gewichtung	Ergebnis
Auftreten bei Patientin / Patient (nur 1 Kriterium ankreuzen)			
Eines Mamma-Karzinoms bei der Patientin vor dem 36. Geburtstag	<input type="checkbox"/> 1	3	
Eines triple-negativen Mamma-Karzinoms bei der Patientin vor dem 50. Geburtstag	<input type="checkbox"/> 1	3	
Eines unilateralen Mamma-Karzinoms bei der Patientin vor dem 51. Geburtstag	<input type="checkbox"/> 1	2	
Eines bilateralen Mamma-Karzinoms bei der Patientin, das erste vor dem 51. Geburtstag	<input type="checkbox"/> 1	3	
Eines uni- oder bilateralen Mamma-Karzinoms bei der Patientin nach dem 51. Geburtstag	<input type="checkbox"/> 1	1	
Eines uni- oder bilateralen Mamma-Karzinoms bei dem Patienten (männlich)	<input type="checkbox"/> 1	2	
Eines Ovarialkarzinoms bei der Patientin vor dem 80. Geburtstag	<input type="checkbox"/> 1	3	
Eines Ovarialkarzinoms bei der Patientin nach dem 80. Geburtstag	<input type="checkbox"/> 1	2	
Eines Tubenkarzinoms oder eines primären Peritonealkarzinoms bei der Patientin	<input type="checkbox"/> 1	2	
Auftreten bei Kindern, Geschwistern und deren Kindern			
Eines Mamma-Karzinoms bei Schwestern/Töchtern/Nichten vor dem 36. Geburtstag	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	3	
Eines unilateralen Mamma-Karzinoms bei Schwestern/Töchtern/Nichten vor dem 51. Geburtstag	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	2	
Eines bilateralen Mamma-Karzinoms bei Schwestern/Töchtern/Nichten, das erste vor dem 51.	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	3	
Eines uni- oder bilateralen Mamma-Karzinoms bei Schwestern/Töchtern/Nichten nach dem 51.	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	1	
Eines Mamma-Karzinoms bei Brüdern/Söhnen/Neffen	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	2	
Eines Ovarial-/Tubenkarzinoms/primären Peritonealkarzinoms bei Schwestern/Töchtern/	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	2	
Summe Patientin / Patient und deren Geschwister/Kinder	A		
B. Weitere mütterliche Linie (inkl. Mutter)	Anzahl (bitte ankreuzen)	Gewichtung	Ergebnis
Auftreten			
Eines Mamma-Karzinoms bei einer Angehörigen vor dem 36. Geburtstag	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	3	
Eines unilateralen Mamma-Karzinoms bei einer Angehörigen vor dem 51. Geburtstag	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	2	
Eines bilateralen Mamma-Karzinoms bei einer Angehörigen, das erste vor dem 51. Geburtstag	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	3	
Eines uni- oder bilateralen Mamma-Karzinoms bei einer Angehörigen nach dem 51. Geburtstag	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	1	
Eines Mamma-Karzinoms bei einem angehörigen Mann	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	2	
Eines Ovarial-/Tubenkarzinoms oder eines primären Peritonealkarzinoms bei einer Angehörigen	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	2	
Summe Mutter und weitere mütterliche Linie	B		
C. Vater und weitere väterliche Linie	Anzahl (bitte ankreuzen)	Gewichtung	Ergebnis
Auftreten			

Eines Mamma-Karzinoms bei einer Angehörigen vor dem 36. Geburtstag	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	3	
Eines unilateralen Mamma-Karzinoms bei einer Angehörigen vor dem 51. Geburtstag	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	2	
Eines bilateralen Mamma-Karzinoms bei einer Angehörigen, das erste vor dem 51. Geburtstag	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	3	
Eines uni- oder bilateralen Mamma-Karzinoms bei einer Angehörigen nach dem 51. Geburtstag	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	1	
Eines Mamma-Karzinoms bei einem angehörigen Mann	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	2	
Eines Ovarial-/Tubenkarzinoms oder eines primären Peritonealkarzinoms bei einer Angehörigen	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	2	
Summe Vater und weitere väterliche Linie		C	
		D. Der höhere Wert aus B und C = D	
E. Summe aus A und D =	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7 <input type="checkbox"/> >7	
Risikoscore	<input type="checkbox"/> 2		

Gemäß der Checkliste der Ärztekammer Westfalen-Lippe, Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Gesellschaft für Senologie, Deutsches Konsortium für Erblichen Brust- und Eierstockkrebs 27.08.2020_V1.0

Abbildung 5: Checkliste zur Erfassung einer familiären genetischen Belastung (FBREK-Zentrum UM Mainz)

uPA/PAI-1

Tumorassoziierte Proteasen wie uPA (urokinase-type plasminogen activator) und sein Inhibitor PAI-1 (plasminogen activator inhibitor type 1) sind wesentliche Faktoren für die Tumoraktivierung und Metastasierung (Mengele et al., 2010) und beeinflussen weitere Prozesse wie Zelladhärenz, Migration und Chemotaxis. Beide Proteasen können mit einem ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) an unfixiertem und gekühlten Frischmaterial von Tumorproben bestimmt werden (Sweep et al., 1998). Retrospektive Studien zeigten eine sehr gute Prognose von nodalnegativen Mamma-karzinomen mit einer niedrigen Expression der Tumorproteasen und umgekehrt (Schmitt et al., 2010). Daher wurde in Deutschland eine prospektive Studie zur weiteren Überprüfung initiiert (Chemo-N0 Trial). In dieser wurden folgende Grenzwerte definiert: „high risk“ uPA \leq 3 ng/mg und / oder PAI-1 \leq 14 ng/mg. Die finale 10-Jahre-Analyse zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen der nicht chemotherapeutisch behandelten low-risk-Gruppe und der chemotherapeutisch behandelten high-risk-Gruppe (Harbeck et al., 2013). Die Patientinnen der low-risk-Gruppe erhielten auch bei positiven Hormonrezeptoren keine endokrine Therapie. Weiterhin wurde der HER2-Status im Studienkollektiv nicht erhoben. Da diese Behandlung nicht mehr den aktuellen Therapieempfehlungen entspricht und sich nicht auf diese übertragen lässt, hat die Leitlinienkommission in der aktuellen Version die Empfehlung für diese Untersuchung zurückgezogen (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020) (S. 121). Dies war konkordant mit den Empfeh-

lungen des IQWiG-Instituts. Ungünstig für die weitere Verbreitung der Methode war auch, dass Tumorproteasen thermolabil sind und daher eine lückenlose Kühlkette zum Transport in die Pathologie aufrechterhalten werden musste, was viele Brustzentren nicht leisten konnten.

2.5 Operative Therapie des Mammakarzinoms

2.5.1 Generelle Konzepte

Die aktuellen Leitlinien empfehlen, dass zur Planung der Primärtherapie eine ausführliche apparative Diagnostik mit Mammographie und Mammasonographie, bei unklaren Befunden auch weiteren radiologische Spezialuntersuchungen durchgeführt werden (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 67). Weiterhin ist eine bioptische Untersuchung mit Bestimmung der mikroskopischen und immunhistochemischen Prognosefaktoren erforderlich. Die Therapieplanung sollte in einem interdisziplinären Konsil von Radiologen, Pathologen und Brustoperateuren stattfinden („prätherapeutisches Tumorboard“). Zu einem operativen Gesamtkonzept gehören: Eine Operationsplanung unter Berücksichtigung der onkologischen Sicherheitsabstände, eine Planung der Lymphknotenoperation, ggf. die onkoplastischen rekonstruktiven Verfahren sowie die Wünsche der Patientin nach einer ausführlichen Besprechung (Harbeck and Gnant, 2017). Die operativen Planungen werden ergänzt durch die Option der primären systemischen Therapie, hierfür wird der gynäkologische Onkologe in das Konzept eingebunden. Beim klinischen Verdacht auf eine Metastasierung oder auch bei einem hohen Risiko ist eine bildgebende Durchuntersuchung erforderlich.

2.5.2 Operative Therapie der Brust

Ziel der Operation eines invasiven Mammakarzinoms ist eine Tumorsektion in sano (R0-Status)(Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 93). In den 1970er Jahren wurden die ultraradikalen Resektionen zurückgenommen zu einfachen Mastektomien. Zwei Arbeitsgruppen (Veronesi in Italien, Fisher in den USA) begannen in den 1980er Jahren mit dem Konzept einer Brustteilresektion (sog. brusterhaltende Therapie, BET). Es stellte sich heraus, dass diese nur dann die onkologische Sicherheit einer Ablatio mammae hatte, wenn anschließend eine Strahlentherapie der Restbrust durchgeführt wurde. 2002 konnten beide Arbeitsgruppen entsprechende 20-jährige Verlaufsdaten präsentieren (Veronesi et al., 2002, Fisher et al., 2002).

Indikationen sind (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 94):

- Lokal begrenzte nichtinvasive Karzinome (DCIS)
- Invasive Karzinome mit günstiger Relation von Tumorgöße zu Brustvolumen
- Invasive Karzinome mit DCIS-Komponente und R0-Resektion

Von einer BET sollte Abstand genommen werden bei:

- Inkompletter Resektion (Karzinom / DCIS)
- Inflammatorischem Tumortyp mit ausgedehnter Lymphangiome
- Kontraindikationen zur Nachbestrahlung

Auch sollten immer die Patientensituation und der Patientenwunsch berücksichtigt werden.

Im Fall einer lokalen R1-Resektion wird eine Nachresektion empfohlen. Insgesamt werden in Deutschland 60-80% der Patientinnen brusterhaltend operiert (Kaufmann and Scharl, 2012)(S. 849), (Kiderlen et al., 2015).

Die Mastektomie-Indikationen sind entsprechend umgekehrt zu denen der BET. Die Amputation sollte auch erwogen werden, falls eine Nachresektion erneut R1 klassifiziert wird. Für den Fall einer Mastektomie soll die Patientin immer auf die Möglichkeiten der plastischen Rekonstruktion aufgeklärt werden (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 98). Hier gibt es verschiedene Varianten der Haut- und Mamillenerhaltung, die nicht randomisiert gegeneinander geprüft wurden, sich in klinischen Verläufen aber als onkologisch sicher etabliert haben (Piper et al., 2013).

2.5.3 Operative Therapie der Lymphknoten

Das axilläre Staging soll Bestandteil der operativen Therapie des Mammakarzinoms sein (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 99). Die Einführung der Sentinel-Node-Biopsie war einer der wichtigsten Fortschritte der „operativen Therapie der letzten Jahre“ (Reimer et al., 2014). Durch die Beschränkung der konventionellen Lymphknotenentfernung auf Fälle mit klinisch oder sonographisch suspekter Axilla konnte bei 70-80% der betroffenen Frauen die Operationsradikalität eingeschränkt werden, mit entsprechend deutlicher Verringerung der operativen Morbidität (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 68). Zunächst sah man bei

einem Tumorbefall des Sentinel-Lymphknotens eine konventionelle Axilladisektion als indiziert. Weitere Studien, insbesondere der ACOSOG Z0011-Trial zeigten, dass die Rezidivrate nicht erhöht war, wenn nur einer bis zwei Lymphknoten befallen waren und eine Radiatio der Restbrust erfolgte. Eine Erklärung hierfür ist, dass bei der Bestrahlung der Restbrust in Tangentialfeldern die untere/mittlere Axilla mit im Strahlenfeld liegt (Jagsi et al., 2014). Somit besteht heute die Empfehlung einer weiterführenden Axilladisektion nur dann, wenn mehr als zwei Sentinel-Lymphknoten befallen sind oder keine Strahlentherapie erfolgt (Lyman et al., 2014).

2.6 Strahlentherapie des Mammakarzinoms

2.6.1 Bestrahlung nach brusterhaltender Operation

Bei einem Zustand nach brusterhaltender Operation zeigten auch umfangreiche Reviews (10 Jahre Nachbeobachtung, knapp 11 000 Patientinnen) die adjuvante Strahlentherapie als wichtigste Maßnahme zur Reduktion eines Lokalrezidivs (Darby et al., 2011). Hiervon profitierten alle untersuchten Subgruppen (z.B. der Lymphknotenstatus). Zusätzlich wurden auch distante Rezidive reduziert. Versuche, mittels des Multigentests Endopredict® eine nicht profitierende Subgruppe zu definieren, führten nicht zum Erfolg (Fitzal et al., 2015).

Durch moderne Techniken und exakte Planung der Bestrahlungsfelder sind die Risiken der Strahlentherapie gering, insbesondere was die Auswirkungen auf Lunge und Herz betrifft (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 144).

Bis vor wenigen Jahren erfolgte die Radiotherapie in einer Gesamtdosis von 50 Gy in 25-28 Fraktionen („normo-fraktioniert“, Fraktionen bedeuten Einzelanwendungen). Mittlerweile zeigen große Studien, dass eine „Hypofraktionierung“ mit einer Gesamtdosis von 40 Gy in 15-16 Fraktionen äquivalente Resultate ergibt (Bentzen et al., 2008, Haviland et al., 2013).

2.6.2 Postmastektomiebestrahlung

Entsprechend den Empfehlungen der ASCO (Recht et al., 2016) soll eine Strahlentherapie der Thoraxwand nach Mastektomie erfolgen bei:

- Tumorstadium pT4
- Tumorstadium pT3 pN0 R0 L1 G3 < 50LJ
- Resektion R1/R2 und fehlender Möglichkeit der sanierenden Nachresektion

- > 3 befallenen axillären Lymphknoten
- 1-3 befallenen Lymphknoten und Tumor mit erhöhtem Risiko (ungünstige Prognosefaktoren)

Bei lokal fortgeschrittenen Karzinomen und befallenen Lymphknoten senkt die Postmastektomiebestrahlung das Lokalrezidivrisiko und verbessert die Überlebensrate (McGale et al., 2014).

2.6.3 Bestrahlung der Lymphabflusswege

Die aktuelle Leitlinie unterscheidet diese für verschiedene Lymphknotenstationen und unterschiedliche Tumorlokalisationen und bezieht zudem weitere Prognosefaktoren ein (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 155-157). Insgesamt wird jedoch in Risikosituationen wie ausgedehntem Lymphknotenbefall ein eindeutiger Benefit zwischen Nutzen und Risiken gesehen. Kardiale und pulmonale Beeinträchtigungen stehen hier im Vordergrund, sodass bei entsprechenden Vorschäden die isolierte Radiatio der supra- und infra-klavikulären Lymphknoten erwogen werden kann (S. 158).

2.7 Systemische Therapie des Mammakarzinoms

Prinzipiell orientieren sich die systemischen Therapieverfahren an den prädiktiven Faktoren (vergl. Kap. 2.4). Zur weiteren, individualisierten Entscheidung werden jedoch in aller Regel auch die prognostischen Faktoren einbezogen.

2.7.1 Adjuvante Therapie

Unter einer adjuvanten Therapie („unterstützend“) versteht man eine Maßnahme für eine Patientin, bei der in den klinischen und apparativen Untersuchungen kein Nachweis einer distanten Metastasierung besteht („M0“), die jedoch aufgrund der Prognosefaktoren des Tumors ein Risiko für eine noch nicht klinisch detektierbare Metastasierung hat. Das Schlagwort „neoadjuvant“ meint dagegen eine Umkehrung der Therapieabfolge im Sinn einer primären systemischen Therapie (vor der operativen Intervention). Bei einem Großteil der Patientinnen lässt sich zum Zeitpunkt der Primärdiagnose keine Metastasierung nachweisen. In dem Fall existiert bei entsprechender Therapie eine hohe Chance auf eine definitive Heilung (Harbeck and Gnant, 2017).

2.7.2 Adjuvante endokrine Therapie

Metaanalysen von zahlreichen Studien zeigten, dass bei positiven Östrogenrezeptoren alle Patientinnen von einer endokrinen Therapie über fünf Jahre profitieren (Davies et al., 2011). Weitere Analysen zum Grenzwert des IRS konnten nachweisen, dass erst ab einer Rezeptorpositivität von 10% der untersuchten Zellen eine Wirkung besteht, Tumoren mit weniger als 10% verhielten sich eher wie Triple-negative (Yi et al., 2014).

Bei allen prämenopausalen Patientinnen sollte eine Tamoxifen-Therapie über fünf Jahre durchgeführt werden. Alternativ kommt bei Unverträglichkeit eine Therapie mit einem Aromatasehemmstoff und gleichzeitiger Unterdrückung der Ovarialfunktion mit GnRH-Analoga in Frage (Eisen et al., 2015). Bei postmenopausalen Patientinnen sind Aromatasehemmstoffe in Bezug auf Gesamtüberleben und rezidivfreiem Überleben die wirksameren Substanzen (Rydén et al., 2016). Sie können alleine oder in Sequenz mit einer Tamoxifentherapie eingesetzt werden (Davies et al., 2011).

2.7.3 Adjuvante Chemotherapie

Die Leitlinie empfiehlt eine adjuvante Chemotherapie bei folgenden Indikationen (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 169):

- bei HER2-positiven Karzinomen simultan zu einer Anti-HER2-Therapie
- bei nicht endokrin-sensitiven oder fraglich sensitiven Karzinomen
- bei nodal-positiven Karzinomen (außerhalb von Studien)
- bei Malignitätsgrad G3
- bei jüngeren Patientinnen <35 LJ

Für die Chemotherapie stehen verschiedene Schemata zur Verfügung, wobei Anzahl der Zyklen, Intervalldauer und Dosis je nach Risiko variiert werden. Standardsubstanzen sind Anthrazykline und Taxane (Peto et al., 2012).

Bei lokal fortgeschrittenen oder prognostisch ungünstigen Mammakarzinomen überlegt man heute eine primäre systemische oder neoadjuvante Chemotherapie. Die Therapieabfolge hat keinen Einfluss auf die Überlebensrate (Rastogi et al., 2008), erhöht jedoch die Rate an brusterhaltenden Operationen (von Minckwitz et al., 2011). Da man hier Therapieeffekte innerhalb kurzer Zeitspannen beobachten kann, wurden viele Therapien mit neuen Medikamenten oder Kombinationen in neoadjuvanten Studien geprüft.

2.7.4 Adjuvante Therapie bei HER2-Überexpression

Bei Patientinnen mit einem HER2 überexprimierenden Tumor ist eine Antikörpertherapie mit Trastuzumab (Herceptin®), kombiniert mit einer Chemotherapie Standard, was in großen Studien, wie auch in einem Cochrane Intervention Review an 12 000 Patientinnen bestätigt werden konnte (Moja et al., 2012). Die Trastuzumab-Therapie wird über die Dauer von einem Jahr durchgeführt, die Chemotherapie in der Regel über 6 Zyklen. Wesentliche Nebenwirkung der Antikörpertherapie ist eine Kardiotoxizität (Cameron et al., 2017), die besonders ältere und kardial vorgeschädigte Patientinnen trifft. Daher werden begleitende Echokardiographie-Untersuchungen empfohlen.

Weitere Entwicklungen in der Anti-HER2-Therapie waren das Antikörper-Chemotherapeutikum-Konjugat Trastuzumab-Emtansin (TDM-1®), die simultane Verwendung des zweiten Antikörpers Pertuzumab (sog. horizontale duale Blockade) oder die Kombination mit dem Small Molecule Lapatinib (sog. vertikale Blockade), die in neoadjuvanten Kombinationen verwendet wurden. Insbesondere führte der Erfolg der horizontalen dualen Blockade in der metastasierten Situation zu einer Zulassung in den USA (Swain et al., 2013).

2.7.5 Adjuvante Therapie bei triple-negativen Tumoren / BRCA-Mutation

Die biochemischen Stoffwechselanalysen waren von besonderer Bedeutung bei der prognostisch ungünstigsten Tumorgruppe, den sog. triple-negativen Tumoren, die dem basaloiden Subtyp angehören. Für diese Tumoren gab es lange nur konventionelle Chemotherapien mit mäßiger Wirksamkeit. Über die Analysen der Stoffwechselwege konnten neue Therapieoptionen etabliert werden. Hierzu zählen die sog. Checkpoint-Inhibitoren, die in das Tumormunnsystem eingreifen (Heimes and Schmidt, 2019).

Daneben konzentrierte sich die Forschung besonders auf Tumoren mit einer genetischen Mutation der *BRCA*-Gene, sodass solche Patientinnen mit PARP-Inhibitoren einer spezifischen Therapie zugänglich sind (Robson et al., 2017).

2.8 Rezidiertes und metastasiertes Mammakarzinom

Als lokales oder lokoregionäres Rezidiv eines Mammakarzinoms bezeichnet man ein Wiederauftreten (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 200) an folgenden Stellen:

- in der gleichen Brust
- an der gleichen Seite der Thoraxwand
- in den regionären axillären Lymphknoten

- in den infra- und supraklavikulären Lymphknoten
- in den Lymphknoten entlang der Arteria mammaria interna

Alle weiteren Lymphknotenstationen sowie Organbeteiligungen werden als Fernmetastasen klassifiziert. Rezidive und Fernmetastasen können synchron auftreten, daher sind komplette Staginguntersuchungen angezeigt (Bruce et al., 1970). Die häufigsten Metastasen sind Skelettmetastasen (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 232), insgesamt ist eine Metastasierung eines Mammakarzinoms zum Zeitpunkt der Erstdiagnose jedoch selten (Gerber et al., 2003).

Grundsätzlich sollte die spezifische Therapie in der rezidierten oder metastasierten Situation individuell angepasst und in einem interdisziplinären Team getroffen werden. Weiterhin stehen zulassungsbedingt in dieser Situation auch neuere Medikamente wie CDK4/6-Inhibitoren (Finn et al., 2016) oder mTOR-Inhibitoren wie Everolimus zur Verfügung (Baselga et al., 2012).

Da in dieser Situation für eine Langzeittherapie geplant werden muss, empfiehlt die Leitlinie eine möglichst nebenwirkungsarme Therapie und eine Beachtung des therapeutischen Index aus Symptomkontrolle und Nebenwirkungen (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 219).

2.9 Nuclear Factor kappa B

2.9.1 Allgemeine Übersicht zu NFκB

NFκB ist ein spezifischer Transkriptionsfaktor, der in allen menschlichen Zellen nachzuweisen ist. Spezifische Transkriptionsfaktoren sind Proteinkomplexe, die der RNA-Polymerase vermitteln, welches Gen transkribiert werden soll. NFκB ist an zahlreichen Prozessen beteiligt wie der Regulation der Zellproliferation, der Immunantwort und des Zelltodes, wird aber auch mit zahlreichen Erkrankungen in Zusammenhang gebracht. Park (Park, 2017)(Übersichtsarbeit) gibt eine Übersicht über die Stoffwechselwege von NFκB, der Modifikation dieser Abläufe in Tumorzellen sowie mögliche therapeutische Optionen zur Beeinflussung:

NFκB ist aufgebaut aus homodimerischen oder heterodimerischen Komplexen der Rel-Proteinfamilie, von denen es in Säugetieren fünf Varianten gibt (Ghosh et al., 1998): RelA (p65), RelB, RelC, NFκB1 (p50, Prekursor p105) und NFκB2 (p52, Pre-

kursor p100). Die Aktivität dieser Proteine wird durch I-kappa B-alpha Kinasen (IKKs) reguliert ($IKK\alpha/IKK\beta$)(Abb. 6).

Es existiert ein klassischer (kanonischer) sowie ein alternativer (non-kanonischer) Stoffwechselweg, um NFκB zu aktivieren (Vallabhapurapu and Karin, 2009). Im klassischen Weg werden die inhibitorischen IKKs phosphoryliert und degradiert, im alternativen Weg wird p100 phosphoryliert und degradiert. Beide Prozesse spielen auch in Tumorzellen eine Rolle (Baud and Karin, 2009).



The NF-κB pathway. The canonical pathway is induced by TNFα, IL1 and various other stimuli, and is an IKKβ-dependent cascade. Activation of this cascade leads to the phosphorylation of IκBα resulting in degradation by the proteasome. This releases the NF-κB complex and allows it to translocate to the nucleus. The non-canonical pathway is induced by specific stimuli such as lymphotoxin α and is an IKKα-dependent cascade. Activation of this cascade results in phosphorylation of NIK, followed by phosphorylation of IKKα and subsequent phosphorylation of the p100 NF-κB subunit. This subunit is then processed to p52, which leads to the activation of the p52-RelB heterodimer. The heterodimer can then translocate to the nucleus where it controls the transcriptional processing of its target genes. <https://doi.org/10.1530/ERC-19-0087>

Abbildung 6: Stoffwechselwege von NFκB

verändert nach (Khongthong et al., 2019)

Das Tumorsuppressorprotein CYLD wurde als negativer Regulator von NFκB identifiziert. Dieses bindet an IKK und verhindert die Phosphorylierung. Dementsprechend

verursacht der Verlust des *CYLD*-Gens eine Aktivierung der Inflammation. In Maus-Modellen konnte über die Steigerung einer chronischen Entzündung eine Karzinogenese belegt werden. In den Modellen führte eine chronische Cholangitis zum hepatozellulärem Karzinom (Garkavtsev et al., 2004), bzw. eine chronische Kolitis zum Kolonkarzinom (Greten et al., 2004).

Eine tumorspezifische Aktivierung von NFκB kann weiterhin durch eine DNA-Beschädigung hervorgerufen werden, wodurch sowohl der klassische als auch der alternative Weg getriggert werden kann.

Bei zahlreichen Krebserkrankungen wurde eine Aktivierung von NFκB beobachtet, insbesondere im Zusammenhang mit der tumorinduzierten Immunmodulation (Muraro et al., 2015).

NFκB ist ein potentieller Aktivator in der Reifung von dendritischen Zellen, natürlichen Killerzellen und zytotoxischen T-Zellen (Zhou et al., 2002). Auf tumorassoziierten Makrophagen konnte ein defektes NFκB-System nachgewiesen werden (Biswas et al., 2006). Ein möglicher Mechanismus zur Herabregulation der Funktion von natürlichen Killerzellen wurde beschrieben (Schilling et al., 2015). Der Luciferase-Inhibitor NZ28 kann neben einer Hemmung des Transkriptionsfaktors Heat Shock Factor 1 die NFκB-Aktivität hemmen.

2.9.2 Bezüge zur Mamma und zum Mammakarzinom

NFκB ist im Mausmodell für die Entwicklung und Ausreifung des normalen mammären Drüsengewebes notwendig (Brantley et al., 2001). In Mäusen mit defizienten IKKs unterblieb die lobulo-alveoläre Ausreifung des Epithels in der Gravidität (Cao et al., 2007). Die Signalaktivierung von NFκB wird durch Mitglieder der TNF (Tumor Nekrose Faktor)-alpha-Rezeptorfamilie beeinflusst (Schütze et al., 1995, Nolan et al., 2017). Eine wichtige Rolle spielt hier der Rezeptor-Aktivator von NFκB (RANK). Insbesondere Zellen mit Mutationen des *BRCA1*-Gens wurden detailliert untersucht. Da dieses Gen die Ausreifung von luminalen Progenitorzellen beeinflusst, entstehen unreife Proliferate im Brustgewebe (Sau et al., 2016). In diesen Modellen wird häufig der in der Osteoporosetherapie klinisch verwendete RANK-Liganden-Antikörper Denosumab eingesetzt. Die Blockade von RANK konnte in *BRCA1*-mutierten Mäusen die Entwicklung von Mammakarzinomen verhindern (Nolan et al., 2016). Analog führte eine Stimulation des RANK-Pathways in Zellmodellen (ER+/HER2-) zu einer Downregulation der Hormonrezeptoren und erhöhter endokriner Resistenz (Gomes et al., 2020).

NFκB hat zudem eine essentielle Rolle in der Transition von epithelialen zu mesenchymalen Zellen (Huber et al., 2004), beispielsweise in der Umwandlung von luminalen Progenitor-Zellen in myoepitheliale Zellen der Milchgänge.

Yamaguchi und Mitautoren (Yamaguchi et al., 2009) analysierten 35 humane Brustkrebs-Zelllinien mittels eines Western-Blots hinsichtlich ihrer basalen NFκB-Aktivität. Die meisten Zelllinien mit gesteigerter Aktivität waren vom triple-negativen Subtyp. Weiterhin beobachtete man hier über mRNA-Analysen eine gesteigerte NFκB-inducing-Kinase-Aktivität. Die Autoren folgerten, dass eine NFκB-Aktivierung insbesondere dem basaloiden Subtyp des Mammakarzinoms zugrunde liegt.

In eine ähnliche Richtung wiesen Untersuchungen an Maus-Zelllinien, die zeigten, dass luminale Progenitorzellen, aus denen sich Luminalzellen entwickeln, eine Steigerung der NFκB-Aktivität aufwiesen, nicht jedoch mammäre Stammzellen. Aus den luminalen Progenitorzellen entstehen basaloide und triple-negative Mammakarzinome (Pratt et al., 2009). Die Autoren konnten nachweisen, dass insbesondere der kanonische Stoffwechselweg hierfür nötig ist.

2.9.3 Einfluss von NFκB auf Chemo-, Radio- und endokrine Therapie

In Zellen, die mit Chemotherapeutika wie Doxorubicin, Paclitaxel oder Topoisomerase-Hemmstoffen behandelt wurden, ließ sich eine Aktivierung von NFκB beobachten (Pommier et al., 2004). Gleiches traf für eine gamma-Bestrahlung zu (Guo et al., 2004), wie sie beim Mammakarzinom eingesetzt wird.

Eine Resistenz gegen Chemotherapie und Radiatio durch NFκB-induzierte Aktivierung von Anti-Apoptose-Genen konnte gefunden werden (Baldwin, 2001). Im Mausmodell ließ sich zunächst eine Hemmung der NFκB-Aktivität und eine Hemmung der Metastasierung nachweisen (Aggarwal et al., 2005).

Andere Autoren konnten jedoch belegen, dass eine medikamenten-induzierte NFκB-Aktivierung nicht immer mit der Transkription von Anti-Apoptose-Genen einhergeht. Doxorubicin führte hier eher zu einer Hemmung solcher Gene (Ho et al., 2005). Dieses Standard-Chemotherapeutikum des Mammakarzinoms wurde in mehreren Studien weiter analysiert: Es stört die DNA-Synthese und hemmt die Topoisomerase II, was zur Auflösung der Helixstruktur führt (Fornari et al., 1994). DNA Schäden durch Doxorubicin aktivieren den NFκB-Stoffwechsel (Buchholz et al., 2005). Umgekehrt konnte eine Inhibition des NFκB-Stoffwechsels humane Krebszellen für Doxorubicin empfindlicher machen (Tapia et al., 2007).

Neben den genannten Auswirkungen ist NFκB ein wichtiger Faktor in der Entwicklung einer endokrinen Resistenz in der Therapie des Mammakarzinoms (Khongthong et al., 2019).

Eine aktuelle Studie bei 63 Patientinnen zeigte, dass eine immunhistochemisch nachgewiesene Überexpression von NFκB zu einer schlechteren Response auf eine neoadjuvante anthracyclinhaltige Chemotherapie führte (Sampepajung et al., 2021). In einem ähnlichen Ansatz an 62 Patientinnen wurde mittels einer immunhistochemischen Reaktion gegen p65 in unterschiedlichen Stufen und Verteilungsmustern die Expression von NFκB bewertet. Die Ansprechrate auf eine neoadjuvante Chemotherapie war höher bei Tumoren mit negativer NFκB-Expression (Indra et al., 2021). Übereinstimmend konnte eine neuere Untersuchung nachweisen, dass eine kombinierte Hemmung des NFκB-Stoffwechsels mit Pentoxifyllin und Bortezomib im zellulären Modell eine Multidrug Resistance der Tumorzellen gegen das Chemotherapeutikum Doxorubicin verringern konnte (Abdin et al., 2021).

2.9.4 NFκB und histopathologische Prognosefaktoren

Zhou und Mitarbeiter (Zhou et al., 2014) verglichen an 112 Gewebeproben von Mammakarzinomen die immunhistologische Expression von Hormonrezeptoren, NFκB und TNF-alpha mit klinisch-pathologischen Merkmalen. Sie fanden eine Korrelation der Hormonrezeptoren mit dem Malignitätsgrad, dem TNM-Stadium sowie mit NFκB und TNF-alpha sowie untereinander. Die Autoren folgerten daraus, dass NFκB und TNF-alpha ebenso prognoserelevant sind wie die Rezeptorexpression.

Eine weitere Studie mit ähnlichem Ansatz verglich 119 Gewebeproben von Tumoren. Hier gab es ein zusätzliches Kollektiv von 25 Proben von normalem Mammagewebe (Agrawal et al., 2018). Die Analysen erfolgten ebenfalls immunhistochemisch. In dieser Studie ließ sich kein statistischer Zusammenhang zu anderen Prognosefaktoren herstellen. Es fiel jedoch eine signifikant höhere NFκB-Expression im Tumorgewebe im Vergleich zum Normalgewebe auf. In beiden aufgeführten Studien gab es jedoch keine Daten zum Krankheitsverlauf.

2.9.5 Therapeutische Ansätze zur Beeinflussung des NFκB-Stoffwechsels

In einer Übersichtsarbeit beschrieben Zeligs und Co-Autorinnen (Zeligs et al., 2016), dass zum einen der NFκB-Signalweg ein Schlüssel zur normalen Immunfunktion und damit zur Tumorummunität darstellt, zum anderen jedoch über zahlreiche Aktivatorien wie Viren, Entzündung und Zelltod zur Tumorgenese beitragen kann. Dies erschwert die therapeutischen Optionen zur Beeinflussung des NFκB-Stoffwechsels.

Aktuell gibt es zahlreiche Substanzen, deren Einfluss auf den NFκB-Stoffwechsel überprüft werden (Park, 2017). Weiterhin werden Substanzen erprobt, welche in verbundene Stoffwechselwege eingreifen. Beim Mammakarzinom ist dies der PI3K/ AKT/ mTOR-Pathway, der mittels spezifischer Inhibitoren gehemmt werden könnte (Park, 2017). PI3K oder AKT können die NFκB-Aktivität über die RelA(p65)-Untereinheit stimulieren (Madrid et al., 2001). Hiermit könnte eine endokrine Resistenz des Mammakarzinoms überwunden werden (Raphael et al., 2018).

3 Materialien und Methoden

3.1 Patientinnenkollektiv

In der Klinik für Geburtshilfe und Frauengesundheit der Universitätsmedizin Mainz werden die Daten von Patientinnen mit einem primären Mammakarzinom in einer Datenbank zum Zweck der wissenschaftlichen Auswertung und Bearbeitung gesammelt und im Programm Microsoft Excel[®] dokumentiert. Diese umfasst mittlerweile mehr als 2000 Datensätze.

Die Patientinnen der aktuellen Studie waren im Zeitraum zwischen Februar 1986 und September 1999 an einem primären invasiven Mammakarzinom erkrankt, welches mit einer Operation der Brust und einem operativen Staging der Axilla therapiert wurde. Entsprechend den damaligen Leitlinienempfehlungen wurde im Anschluss gegebenenfalls eine Radiotherapie der Brust und der Lymphabflusswege durchgeführt. Neoadjuvante Therapien wurden im untersuchten Kollektiv nicht eingesetzt. Auch wurden alle Patientinnen ausgeschlossen, bei denen eine adjuvante Therapie durchgeführt worden war.

Das Kollektiv wurde nach der NFκB-Expression in 2 Subgruppen geteilt. Da hierzu noch kein Grenzwert etabliert wurde, wurde der Medianwert als Grenze verwendet. Somit wurden 100 Proben als niedrige Expression und 100 Proben als hohe Expression definiert.

3.2 Datenerhebung

3.2.1 Datenquellen

Die meisten Daten wurden retrospektiv aus den Patientenakten im Original oder auf Mikrofilm gewonnen, im Wesentlichen aus Befunden der Pathologie oder des Tumorboardprotokolls. Bei neueren Daten (Behandlung wegen Rezidiv oder Metastasierung, beziehungsweise einer Behandlung in der Frauenklinik wegen einer benignen Zweiterkrankung) konnten auch Daten aus dem aktuellen Klinikdokumentationsprogramm genutzt werden. Dieses wurde vor jeder Patientinnenbefragung nach aktuellen Behandlungsdaten durchsucht. Eine Einverständniserklärung der Patientinnen zur Nutzung der Daten für wissenschaftliche Zwecke lag vor.

3.2.2 NFκB-Analysen

Für die vorliegende Untersuchung wurde ein Subkollektiv von 200 Fällen ausgewählt, in welchem in einer Kollaboration mit dem Leibniz Research Center die microarray-

basierte Genexpression von NFκB1 bestimmt wurde (Prof. Dr. Jan G. Hengstler, Leibniz Research Center for Working Environment and Human Factors, Dept. Systems Toxicology, Ardeystraße 67, 44139 Dortmund, Germany).

Genexpressionsanalysen

Frisch-gefrorenes Gewebe von operativ gewonnenen Mammakarzinom-Proben wurde im Affymetrix HG-U133A array and GeneChip system (Affymetrix, Santa Clara, CA, USA) untersucht, um die Transkriptionsmenge im Karzinomgewebe zu quantifizieren. Beginnend mit 5 µg an totaler RNA wurde die markierte cRNA präpariert unter Verwendung der Roche Microarray cDNA Synthesis, Microarray RNA Target Synthesis (T7) und Microarray Target Purification Kits (Roche Applied Science, Mannheim, Deutschland)(entsprechend der Herstelleranweisungen). Die Expressions-Rohdaten (CEL-files) wurden mittels der MAS 5.0 Software bearbeitet. In den Analyse-Einstellungen wurde die global scaling Prozedur ausgewählt, welche die output signal intensities jedes arrays zu einer mittleren target intensity (TGT) von 500 multipliziert. Proben mit suboptimalen average signal intensities (scaling factors >25 oder glycer-aldehyde-3-phosphate dehydrogenase 3'/5' ratios >5) wurden remarkiert und in neuen Arrays rehybridisiert.

Die Daten wurden an das National Center for Biotechnology Information (NCBI) Gene Expression Omnibus (GEO) unter den Zugangsnummern GSE11121 und GSE26971 gemeldet.

3.2.2 Personenbezogene Daten

- Geburtsdatum
- Operationsdatum:
Das Datum der Operation galt als Eingangsdatum für die Tumornachsorge.
- Art der Operation:
Entsprechend der Leitlinie wurde mit den Patientinnen eine tumorboardbasierte Empfehlung diskutiert. Nachresektionen gingen in die Gesamtbewertung als BET ein, sekundäre Mastektomien nach BET wurden als Mastektomie klassifiziert.
- Lokoregionäres Rezidiv und Diagnosedatum des Rezidivs:
Jedes Wiederauftreten von Brustkrebs auf der betroffenen Seite nach abgeschlossener Primärtherapie wurde als Rezidiv bezeichnet.
- Metastase und Diagnosedatum der Metastasierung:

- Entsprechend der Leitlinienvorgabe wurde die Diagnose der Metastasierung übernommen (vergl. S. 44).
- Tod, Sterbedatum und Todesursache:
Das Sterbedatum wurde als Ende der Nachbeobachtung definiert. Es wurde zwischen einem Tod an Tumor oder einer interkurrenten Ursache unterschieden.

Für die statistischen Analysen wurden keine Namens- und Datumfelder übernommen.

3.2.3 Tumornachsorge

Die Tumornachsorgedaten ergaben sich entweder aus nachfolgenden ambulanten oder stationären Untersuchungen in der Universitätsmedizin. Weiterhin wurden für alle als lebend Gemeldete die nachbetreuenden Ärzte oder die Patientinnen postalisch mittels eines Rückmeldebogens befragt. Die aktuelle schriftliche Evaluation aller nicht verstorbenen Patientinnen datiert auf den August 2020, wobei Rückantworten bis November 2020 für die aktuelle Erhebung genutzt wurden. Die Rücklaufquote für dieses Follow-Up lag bei 41,4% (99 Anschreiben verschickt, davon 41 beantwortet, 22 kamen als unzustellbar zurück). Von allen anderen Patientinnen lagen aktuelle Informationen zum Stichtag des Versands vor.

3.3 Statistische Auswertung

Alle Angaben und erhobenen Werte wurden auf einem Datenblatt mit Hilfe des Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Excel[®] erfasst und soweit möglich entsprechende Parameter etabliert. Daraufhin erfolgte die Übernahme in das PC-Programm IBM[®] SPSS[®] Statistics, Version 26.

Nächste Schritte waren eine Plausibilitätsprüfung mittels deskriptiver Statistikverfahren sowie eine Etablierung weiterer Parameter zur sinnvollen Gruppierung der Daten, z.B. die Zusammenfassung von Subgruppen. Bei stetigen Variablen erfolgte die Berechnung des Medians, des arithmetischen Mittels, der Normalverteilung, Standardabweichung, Perzentilen sowie Minimum und Maximum. Es erfolgte die graphische Darstellung mittels Diagrammen in Form von Balkendiagrammen, Box Plots oder Überlebensfunktionen in SPSS[®] und der Transfer in eine Microsoft Word[®]-Datei.

Eine mögliche Korrelation der NFκB-Expression mit den etablierten Prognosefaktoren wurde mittels Kreuztabellen und dem Chi-Quadrat-Test nach Pearson berechnet. Kriterien für die Verwendung dieses Verfahrens sind das Vorhandensein von mehr als

zwei Kategorien der Zielgröße sowie von Fallzahlen größer als 60 (du Prel et al., 2010). Als Signifikanzniveau wurde 5% (0,05) gewählt. Ergänzend erfolgte sowohl eine Berechnung des Korrelationstests nach Pearson als auch des Korrelationstests nach Spearman. Für diese beiden Tests ergaben sich die gleichen Resultate, die jedoch mit denen des Chi-Quadrat-Tests übereinstimmten. Daher wurden die Resultate dieser beiden Berechnungen nicht in den Ergebnisteil aufgenommen.

Zur Bestimmung der Überlebensraten wurde beim Gesamtüberleben (OS), beim rezidivfreien Überleben (RFS) sowie beim metastasenfremen Überleben (MFS) die Überlebensanalyse nach Kaplan-Meier berechnet und grafisch dargestellt. Da das Gesamtüberleben und das metastasenfremes Überleben als die wichtigsten Parameter für prognostische Faktoren gelten, wurden diese Überlebensfunktionen statistisch berechnet. Zum Vergleich der Überlebenszeiten in den einzelnen Subgruppen wurde der Log Rank-Test verwendet. Auch hier lag das Signifikanzniveau bei 5% (0,05). Sofern sich die Überlebenskurven in diesem Test überschneiden, ist der Test formal nicht anwendbar (Zwiener et al., 2011). Daher wurde in allen Fällen auch eine Cox-Regression berechnet. Zur Veranschaulichung erfolgte jedoch trotzdem eine grafische Darstellung. Zur Berechnung von uni- und multivariaten Zusammenhängen der Überlebenswahrscheinlichkeiten wurde die Regressionsanalyse nach Cox und die Wald-Statistik verwendet. Beim Cox proportional hazard model muss die Annahme der proportional hazards begründet werden. Dies wurde anhand der Kaplan-Meier-Kurven beurteilt (Zwiener et al., 2011).

3.4 Erhobene Variablen

Patientendaten

- Geburtsdatum
- Datum der Primäroperation
- Status (lebend, verstorben, lost to follow-up)
- Datum der letzten Beobachtung
- Metastasierung mit Datum der Erstdiagnose
- Rezidiv mit Datum der Erstdiagnose
- Zweitkarzinom mit Datum der Erstdiagnose

Histologische Tumordaten

- Primäres Operationsverfahren

- Resektatgröße
- Tumordurchmesser
- Axillärer Lymphknotenbefall (Ausschlusskriterium der Studie)
- Histologischer Tumortyp
- Tumorstaging (TNM-Status)
- Angioinvasives Wachstum
- Histologischer Malignitätsgrad

Prognosefaktoren/Bestimmungsmethoden

- Östrogenrezeptorstatus (ER) (Immunhistochemie)
- Progesteronrezeptorstatus (PR) (Immunhistochemie)
- Tumorproliferation (Ki-67/MIB-1) (Immunhistochemie)
- HER-2-Expression (Immunhistochemie/FISH)
- uPA-Expression (ELISA)
- PAI-1-Expression (ELISA)
- Intrinsischer Subtyp (aus den Daten berechnet)

Eine Übersicht der Verteilung der untersuchten Parameter auf die verschiedenen Subgruppen zeigt Tabelle 7.

Tabelle 7: Verteilung der Beobachtungsparameter, der Variablen und Prognosefaktoren auf die Subgruppen

Merkmal	Variablen	Gruppe	Gesamt
Tod	nein	n = 118	n = 200
	verstorben am Tumor	n = 45	
	interkurrent/unbekannt	n = 37	
Metastase	nein	n = 151	n = 200
	ja	n = 49	
Rezidiv lokal	nein	n = 169	n = 200
	ja	n = 31	
histologischer Tumortyp	solid-duktral	n = 136	n = 200
	lobulär	n = 38	

	andere	n = 26	
T-Stadium	pT1	n = 111	n = 200
	pT2	n = 84	
	pT3	n = 5	
Angioinvasion	nein	n = 165	n = 200
	ja	n = 35	
Malignitätsgrad	G1	n = 44	n = 200
	G2	n = 112	
	G3	n = 44	
uPA	niedrig	n = 66	n = 118
	hoch	n = 52	
PAI-1	niedrig	n = 84	n = 118
	hoch	n = 34	
Östrogenrezeptor	IRS 1-12	n = 163	n = 200
	IRS 0	n = 37	
Progesteronrezeptor	IRS 1-12	n = 153	n = 200
	IRS 0	n = 47	
Tumorproliferation	0-20 %	n = 129	n = 193
	>20 %	n = 64	
HER2	niedrig (Score 0/+ / FISH -)	n = 169	n = 200
	hoch (FISH + / Score +++)	n = 31	
Intrinsischer Tumortyp	Luminal A	n = 110	n = 200
	Luminal B	n = 33	
	HER2 amplifiziert	n = 31	

	Triple-negativ/basaloid	n = 26	
--	-------------------------	--------	--

Wegen kleiner Fallzahlen wurden beim Kriterium „histologischer Tumortyp“ die seltenen Subgruppen trotz ihrer prognostischen Unterschiedlichkeit zusammengefasst. Mit gleicher Begründung erfolgte auch eine Zusammenfassung der „MIB-1-Fälle“ zu zwei Subgruppen und der intrinsischen Subtypen „triple-negativ“ und „basaloid“ zu einer Gruppe.

4 Ergebnisse

4.1 Nachbeobachtung der Krankheitsverläufe

Da die Patientinnen im Zeitraum zwischen 1986 und 1999 operiert worden waren, ergaben sich in einigen Fällen sehr lange Überlebenszeiten von bis zu 32 Jahren (Abb. 7). Für die statistische Berechnung wurde die Zeit in Monaten verwendet.

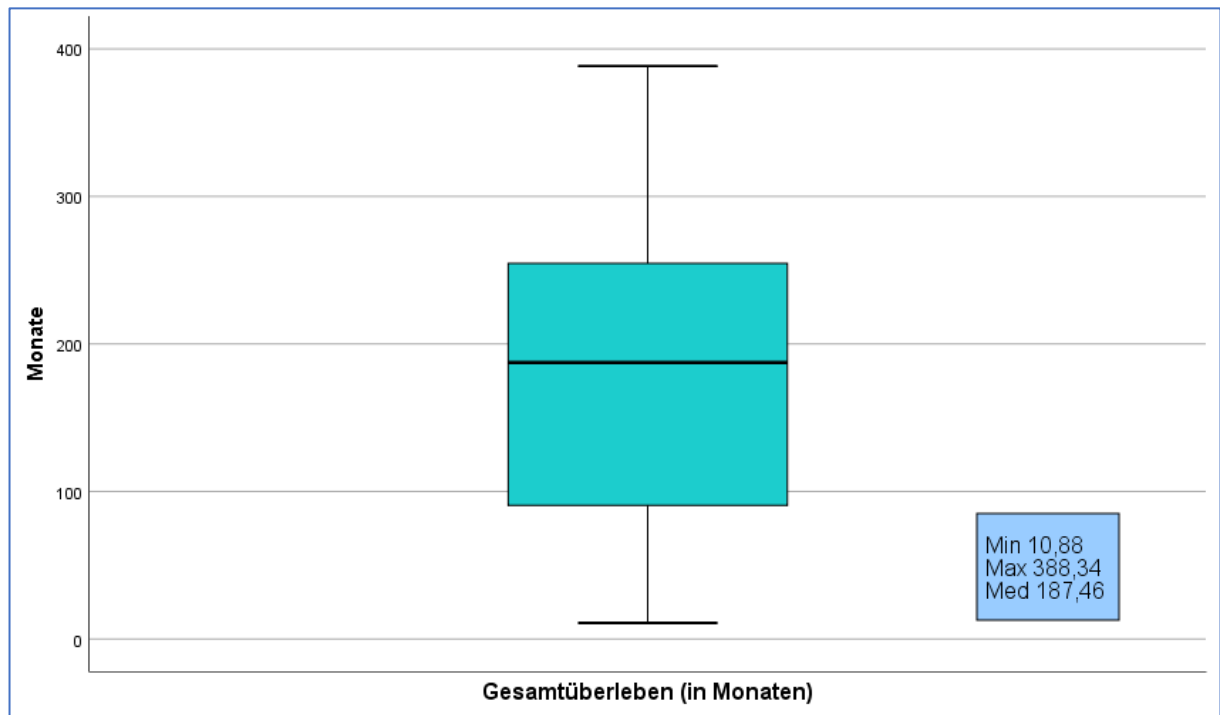


Abbildung 7: Gesamtüberleben im untersuchten Patientinnenkollektiv

Analog war dies auch für das rezidivfreie Überleben (Abb. 8) sowie für das metastasenfreie Überleben zu beobachten (Abb. 9).

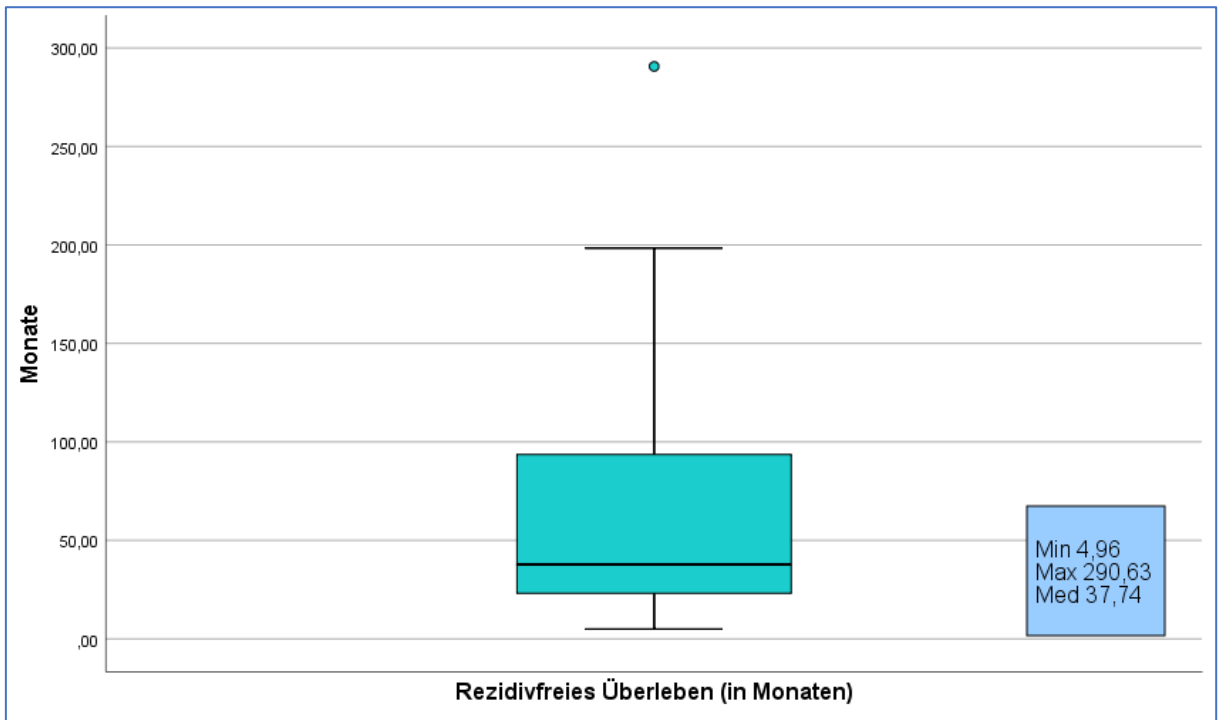


Abbildung 8: Rezidivfreies Überleben im Patientinnenkollektiv, n = 31

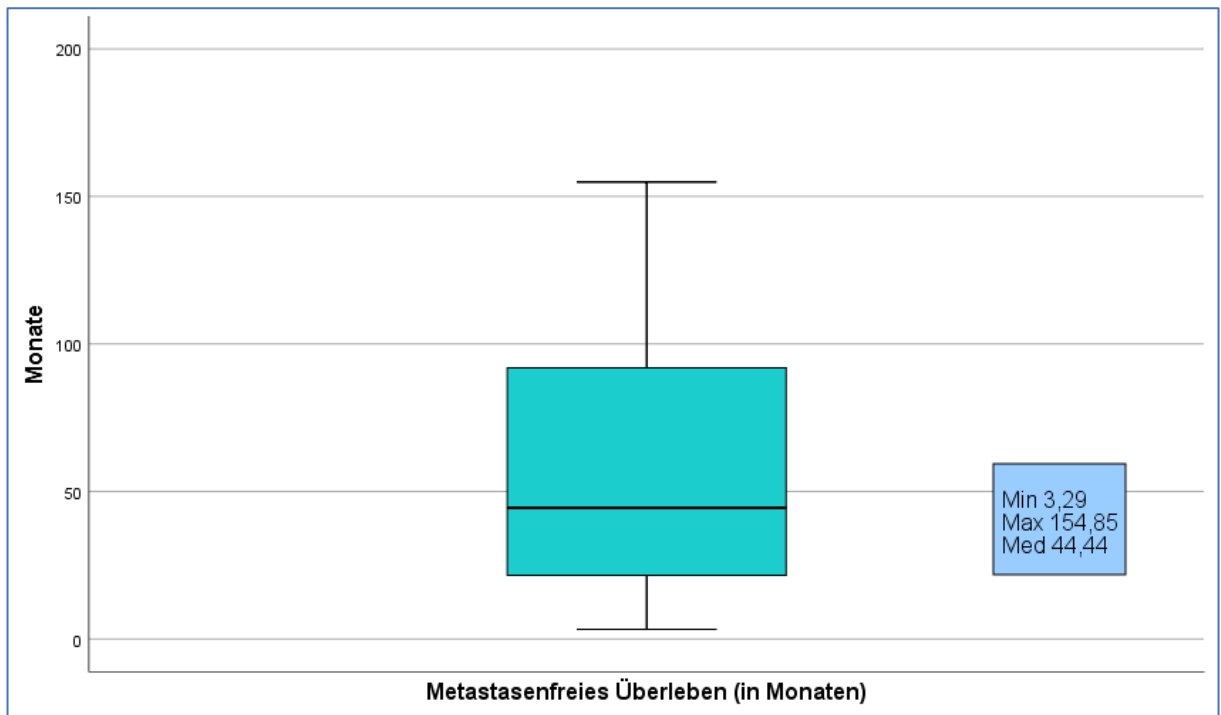


Abbildung 9: Metastasenfreies Überleben im Patientinnenkollektiv, n = 49

4.2 Ergebnisse der untersuchten Variablen und Prognosefaktoren

Nuclear Factor Kappa Beta

Da es keinen etablierten Grenzwert für den Nachweis von NFκB gibt, wurde der Medianwert als Grenze gewählt, womit sich die beiden Gruppen auf je 100 Fälle verteilten. Die Häufigkeitsverteilung zeigte, dass es in beiden Gruppen nur einzelne Ausreißer nach unten und oben gab (Abb. 10). Trotzdem hätte die Verwendung des Mittelwertes (statt des Medians) eine Verschiebung von fünf Datensätzen in die höhere Gruppe bewirkt.

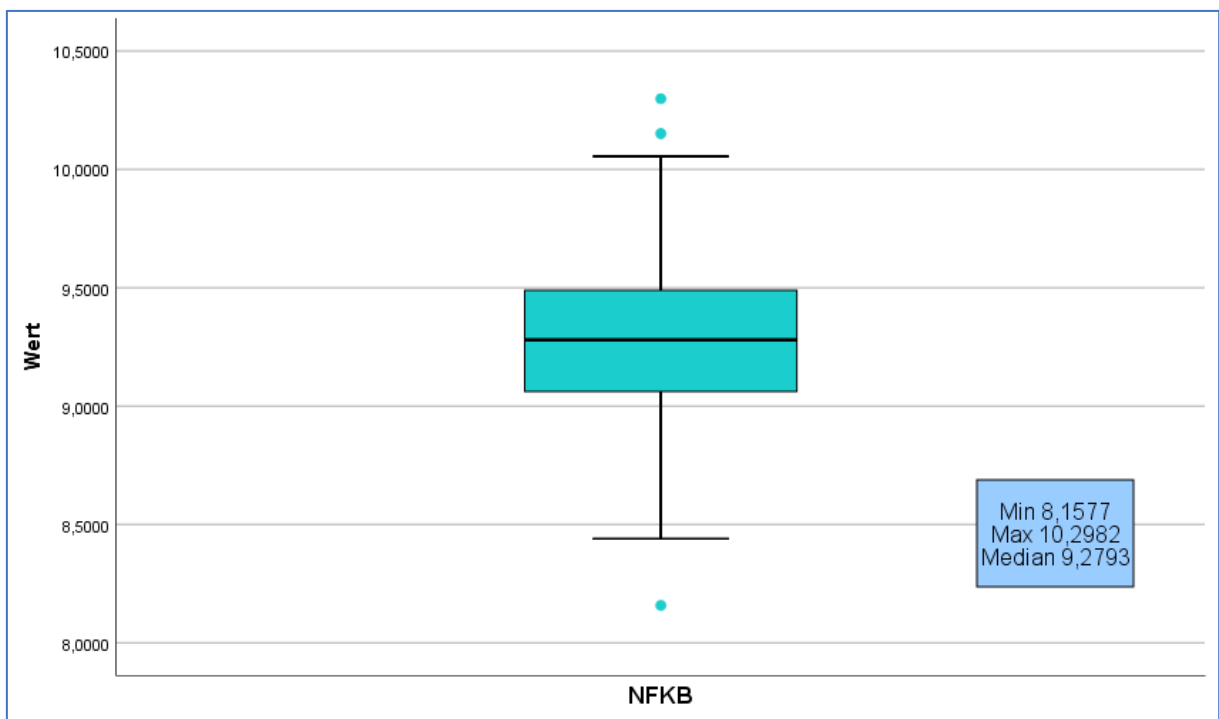


Abbildung 10: Häufigkeitsverteilung von NFκB

4.3 Korrelationen zwischen NFκB und Prognosefaktoren

Die Analyse der verschiedenen histopathologischen Tumortypen zur NFκB- Expression ergab keine signifikante Abhängigkeit (Abb. 11).

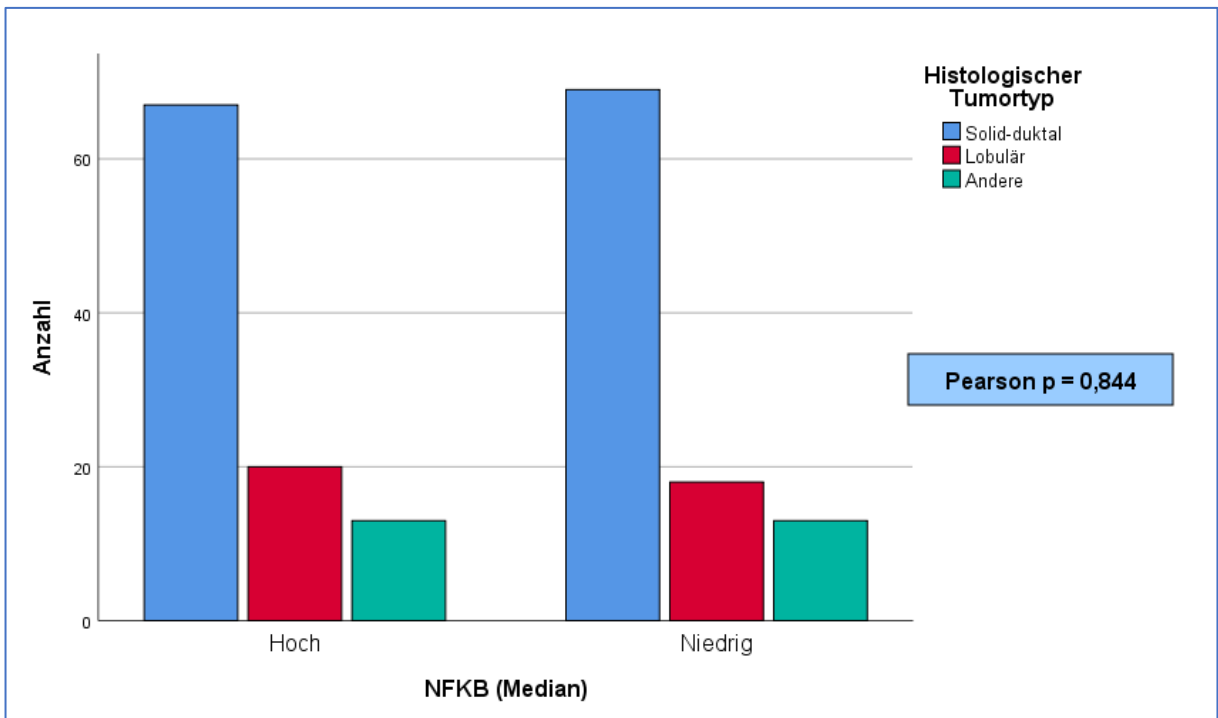


Abbildung 11: Chi-Quadrat-Test: NFkB-Expression und histologischer Tumortyp

Auch zwischen der Tumorausdehnung (Tumorstadium) und der NFkB-Expression zeigte sich keine signifikante Korrelation (Abb. 12).

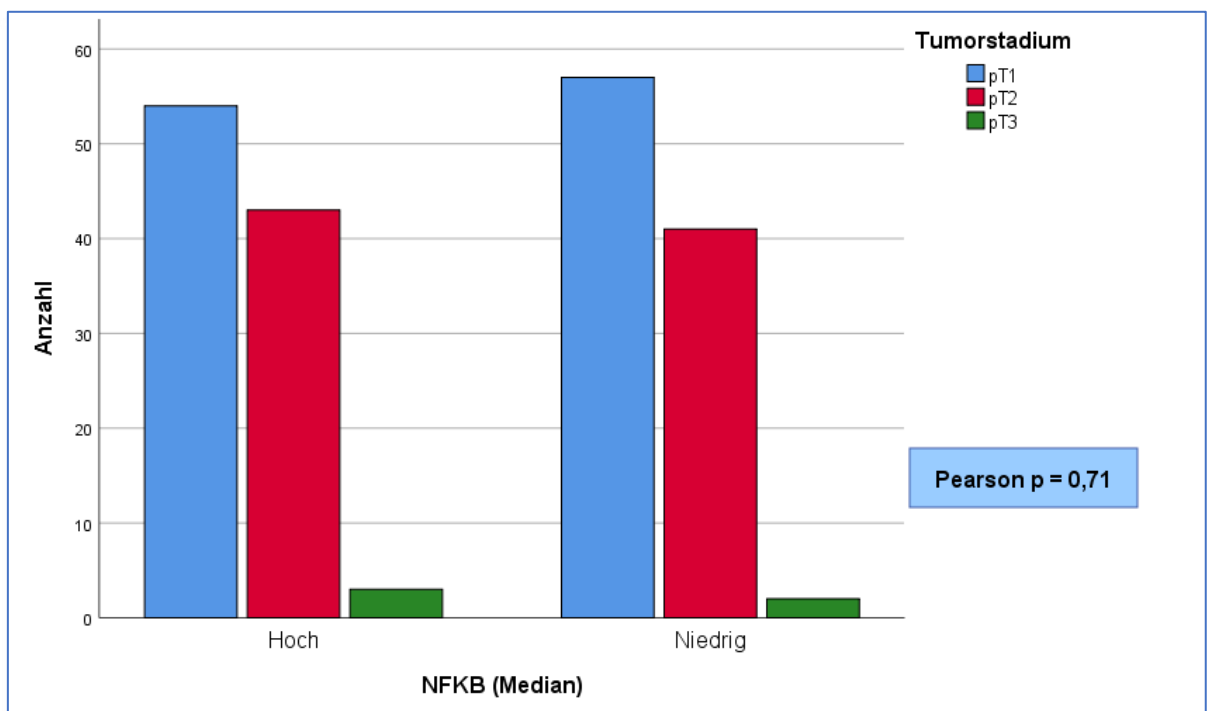


Abbildung 12: Chi-Quadrat-Test: Beziehung zwischen NFkB und Tumorstadium

In Bezug auf den Nachweis einer Angioinvasion sieht man eine Tendenz zu einer höheren NFkB-Expression bei Tumoren ohne angioinvasivem Wachstum. Diese erreichte jedoch nicht das Signifikanzniveau von 0,05 (Abb. 13).

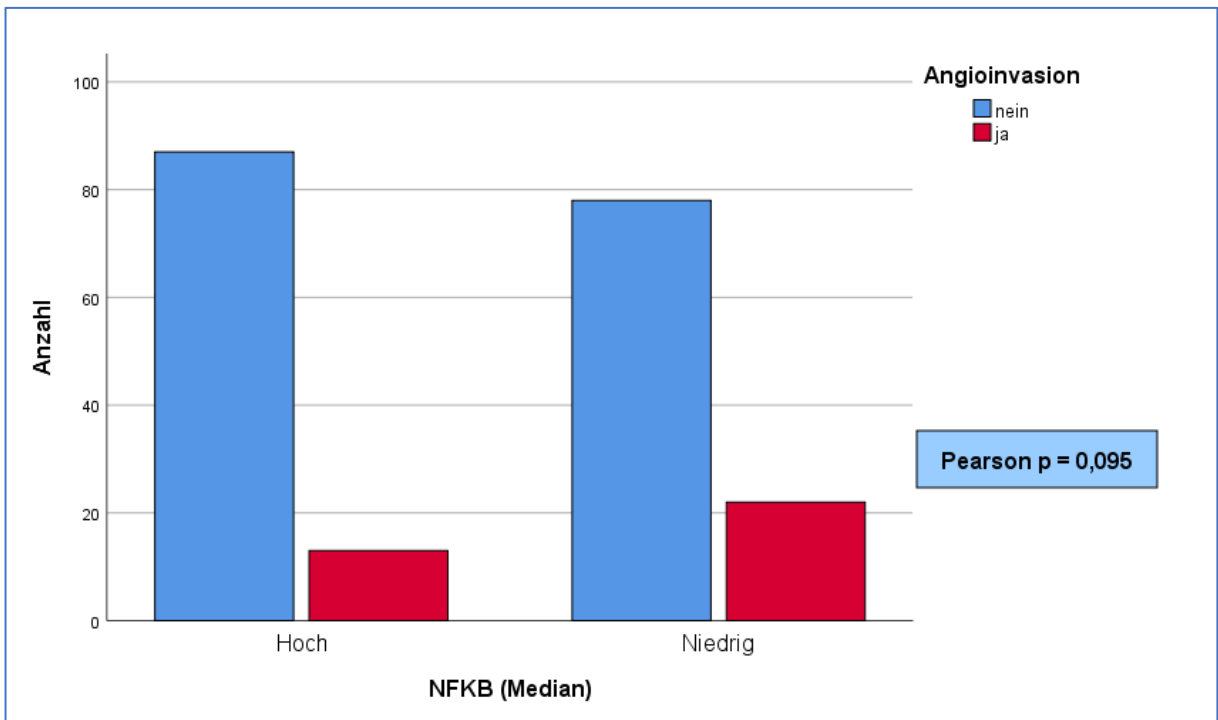


Abbildung 13: Chi-Quadrat-Test: NFkB und Angioinvasion

Der histologische Malignitätsgrad verteilte sich gleichmäßig über die beiden NFkB-Gruppen (Abb. 14).

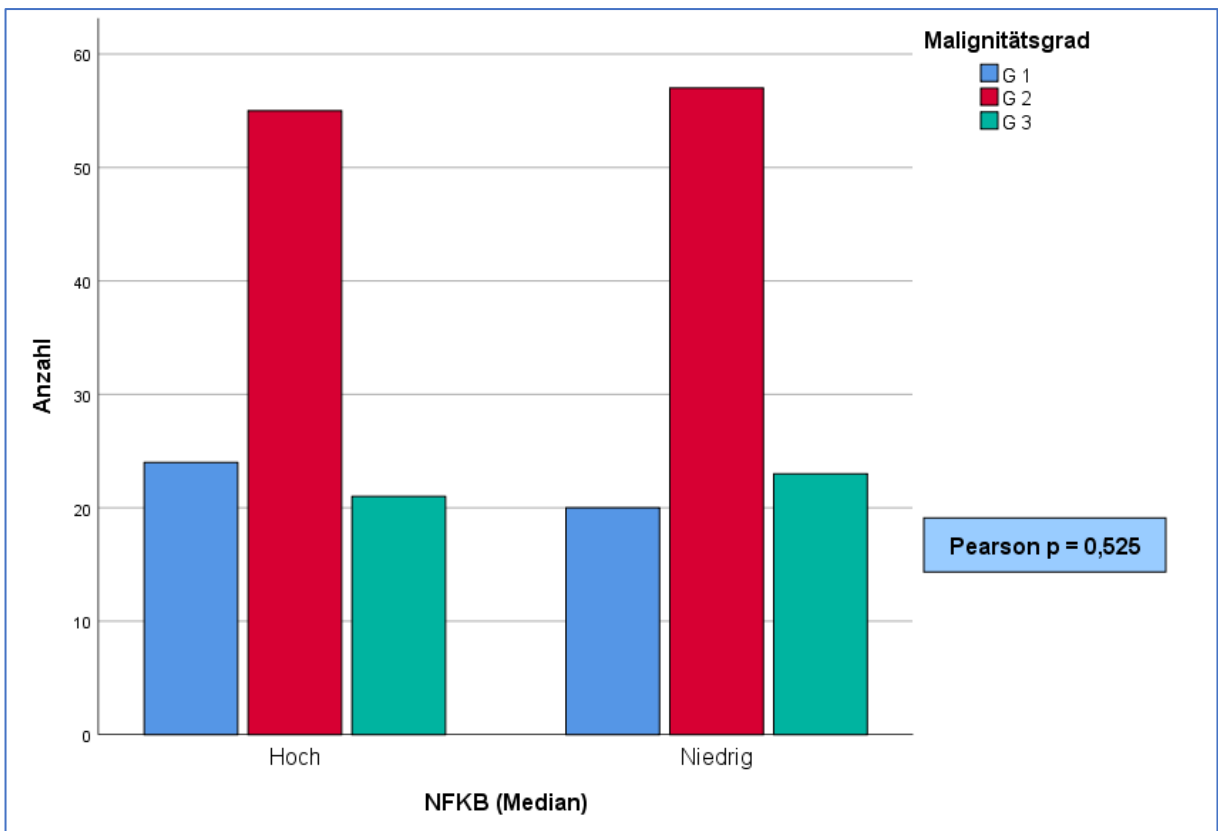


Abbildung 14: Chi-Quadrat-Test: NFkB und Malignitätsgrad

Sowohl hinsichtlich der Expression von uPA (Abb. 15) als auch hinsichtlich der Expression von PAI-1 (Abb. 16) zeigte sich keine Korrelation zur NFκB-Expression.

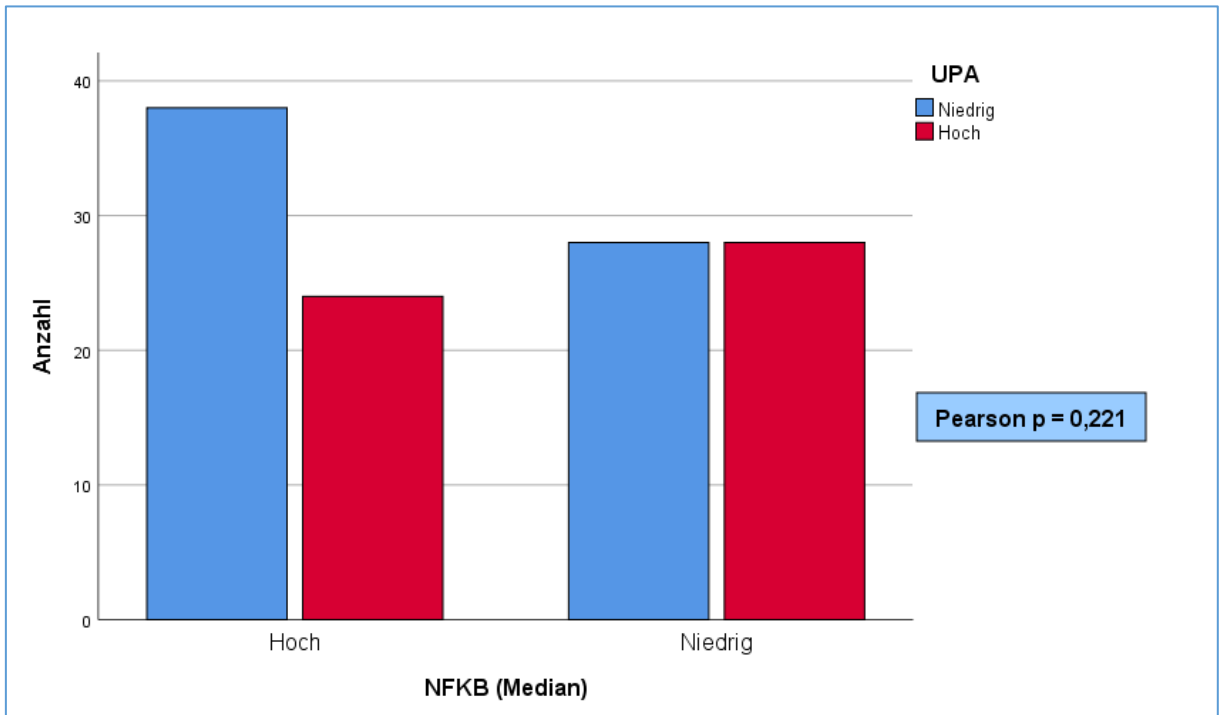


Abbildung 15: Chi-Quadrat-Test: NFκB und uPA

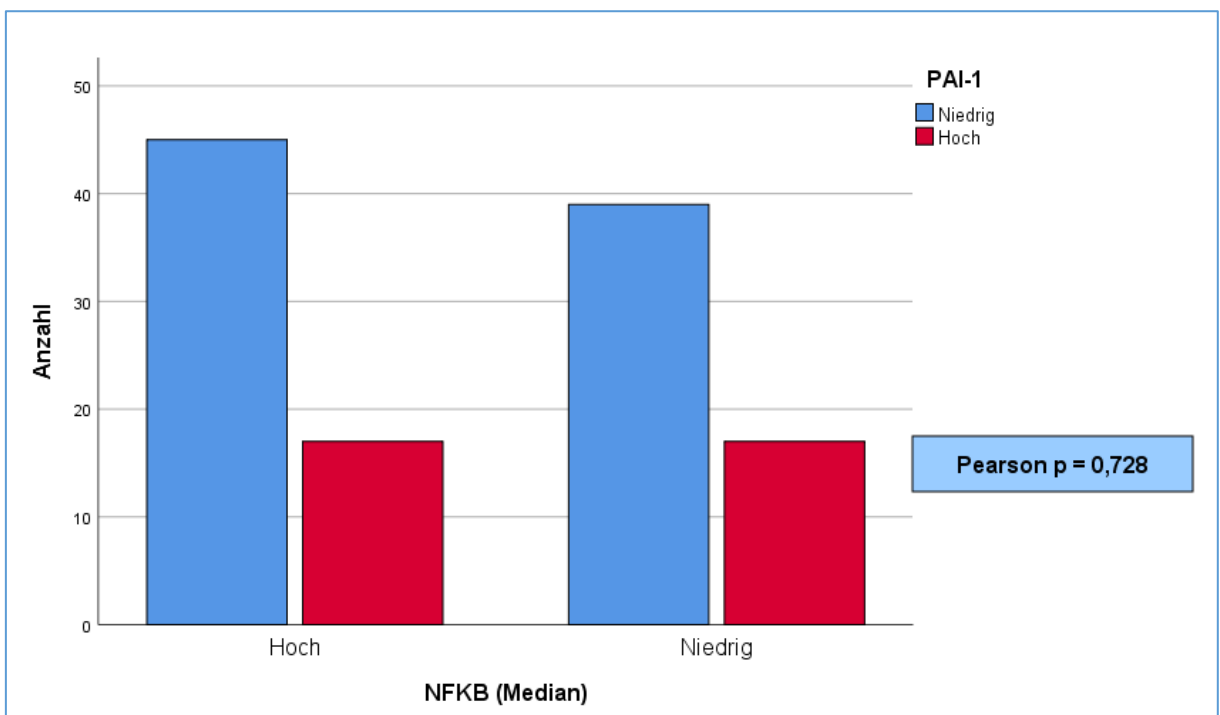


Abbildung 16: Chi-Quadrat-Test: NFκB und PAI-1

Das gleiche Resultat zeigte sich auch bei der Analyse der Östrogenrezeptoren (Abb. 17) und der Progesteronrezeptoren (Abb. 18) mit NFκB.

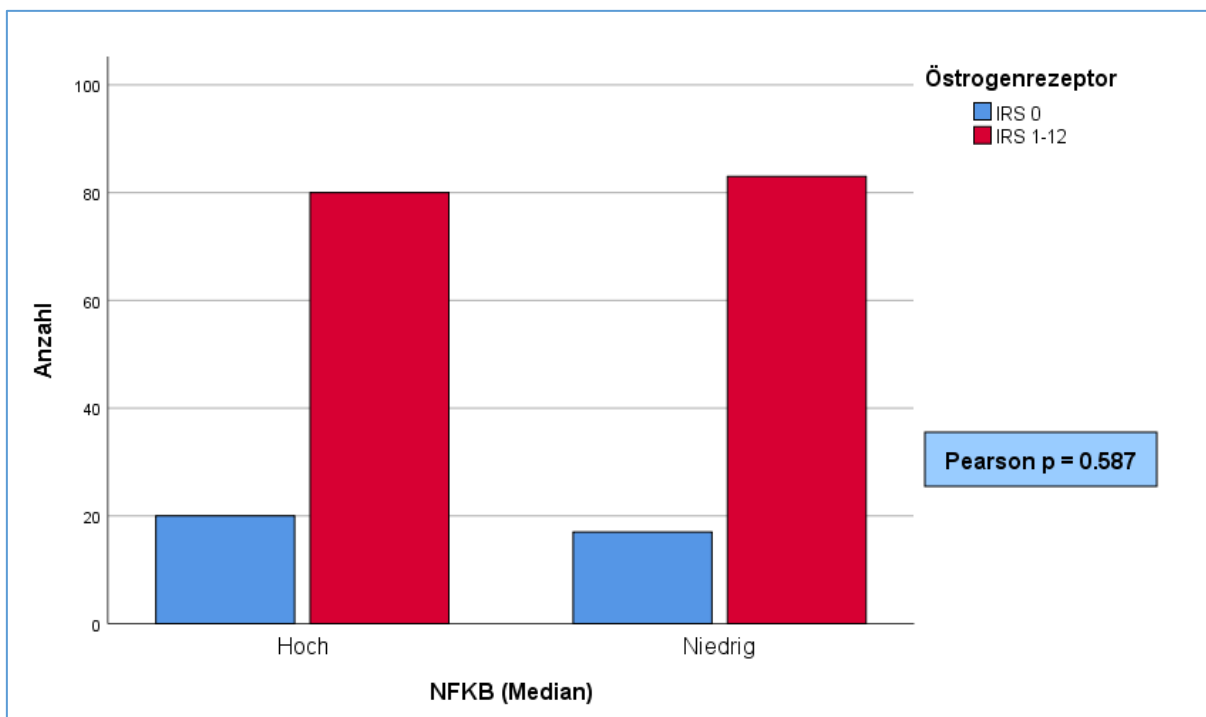


Abbildung 17: Chi-Quadrat-Test: NFκB und Östrogenrezeptoren

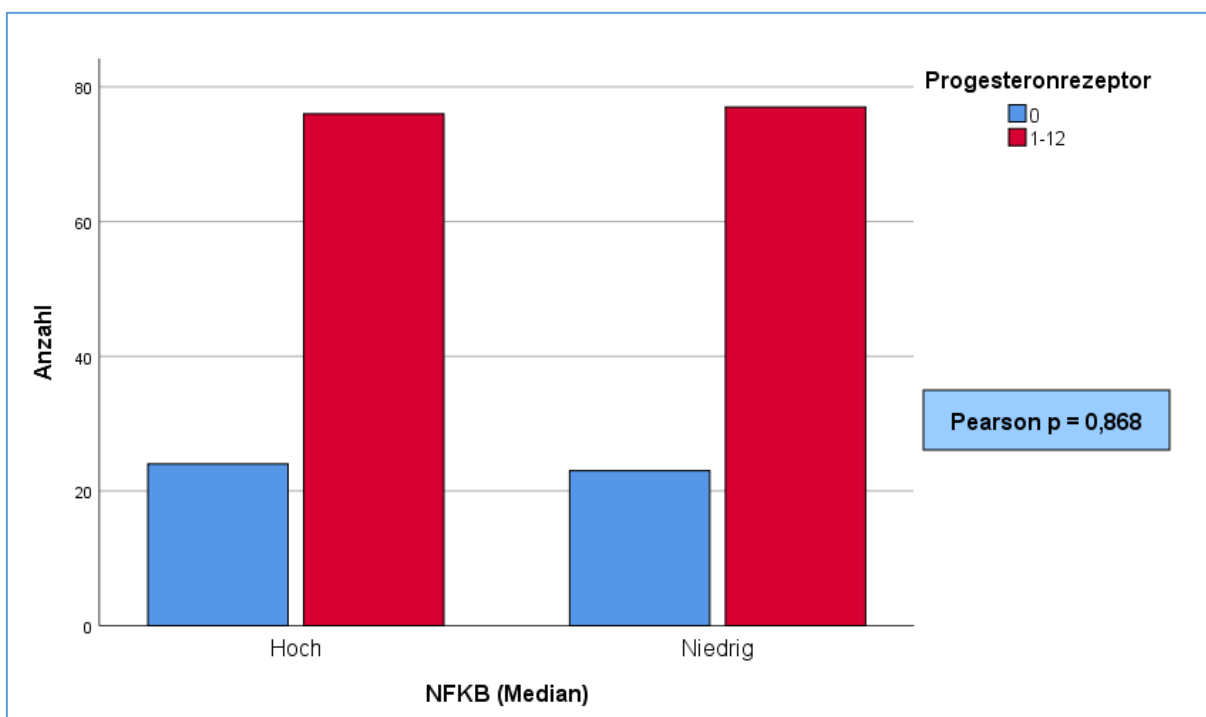


Abbildung 18: Chi-Quadrat-Test: NFκB und Progesteronrezeptoren

Die Tumorpherifation verteilte sich gleichmäßig über die beiden NFkB-Gruppen (Abb. 19). Bei geringem Überwiegen der niedrigen Wachstumsfraktion bei hoher NFkB-Expression ergab sich kein signifikanter p -Wert.

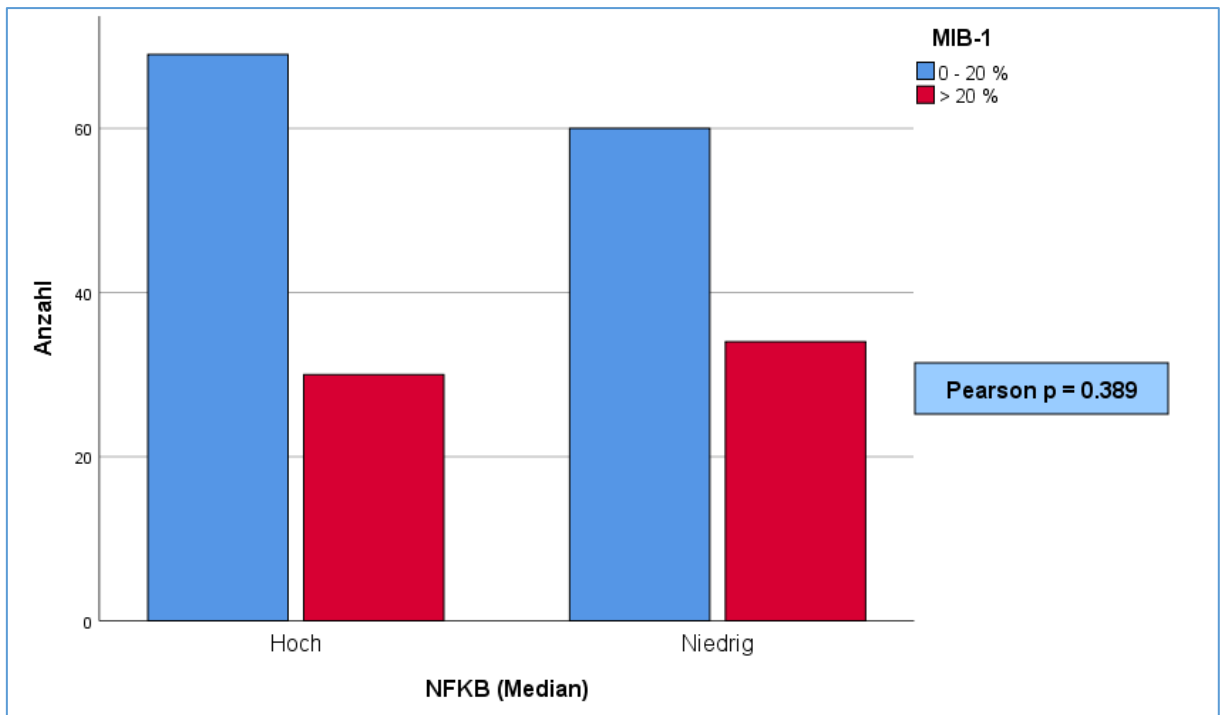


Abbildung 19: Chi-Quadrat-Test: NFkB und Wachstumsfraktion

Differierend war das Ergebnis bei der Untersuchung der HER2-Expression. Hier sah man eine statistisch signifikante höhere NFkB-Expression bei den HER2-negativen Tumoren (Abb. 20).

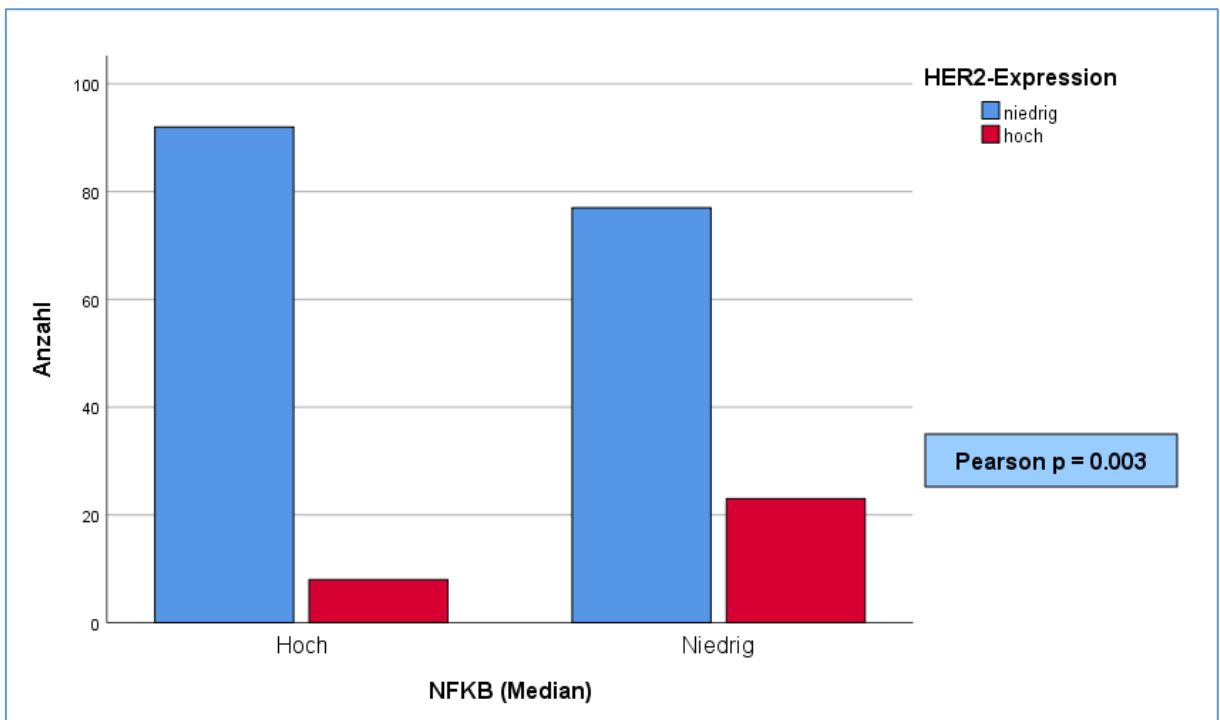


Abbildung 20: Chi-Quadrat-Test: NFκB und HER2

Die Auswertung für die intrinsischen Tumortypen zeigte einen grenzwertig signifikanten Zusammenhang, der sich insbesondere zwischen Luminal A-Tumoren mit hohem NFκB im Vergleich zu den übrigen Subtypen äußerte (Abb. 21).

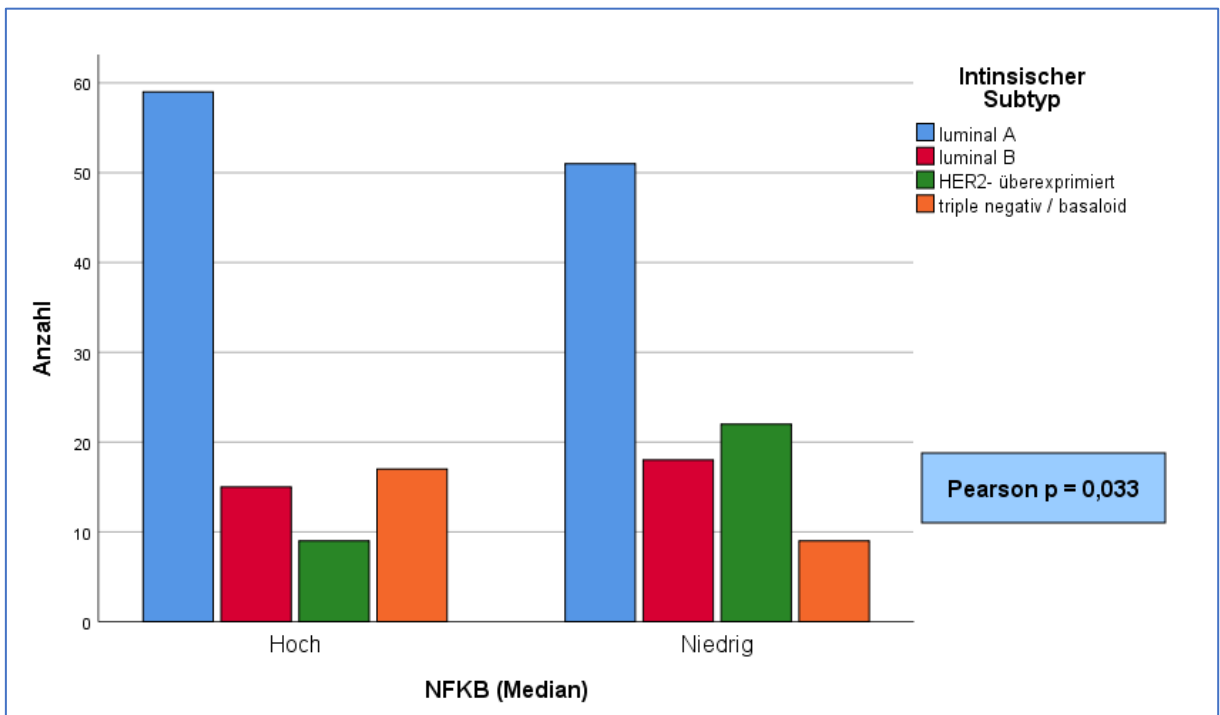


Abbildung 21: Chi-Quadrat-Test: NFκB und intrinsischer Tumortyp

4.4 Überlebenszeitanalysen (Kaplan-Meier-Analysen)

NFκB-Expression

Die Betrachtung des Gesamtüberlebens zeigte in der Grafik einen Trend zu einer günstigeren Prognose bei Tumoren mit einer hohen NFκB-Expression (Abb. 22). Dieser erreichte jedoch kein signifikantes statistisches Niveau.

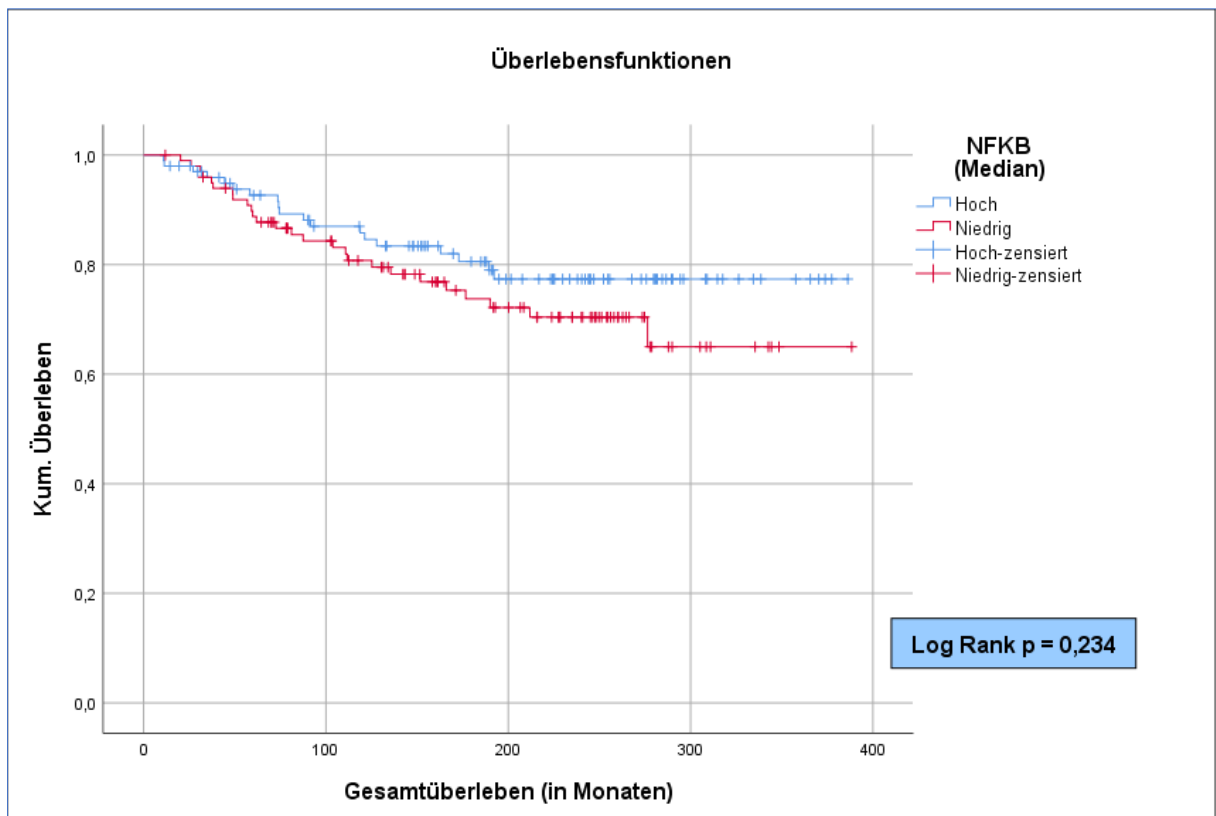


Abbildung 22: Analyse des Gesamtüberlebens für NFκB

Das metastasenfreie Überleben (MFS) war ebenfalls in den beiden Gruppen nicht signifikant unterschiedlich (Abb. 23).

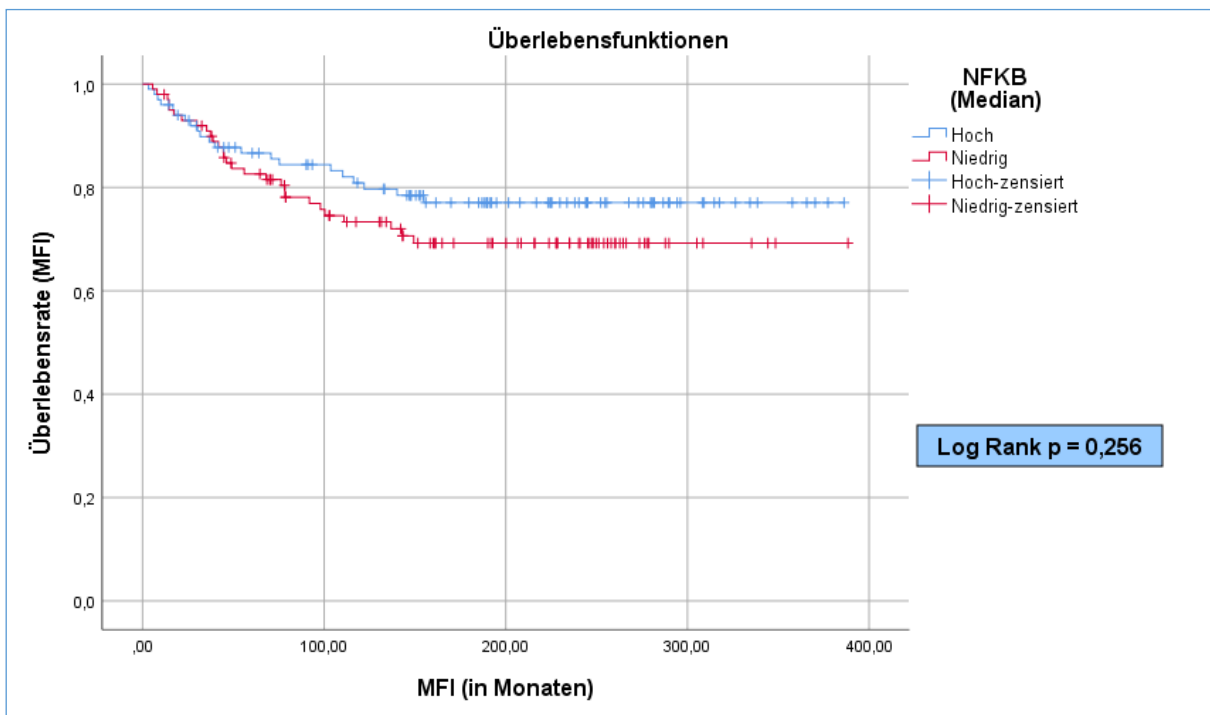


Abbildung 23: Analyse des metastasenfreien Überlebens für NFKB

Tumortyp

Im untersuchten Kollektiv unterschied sich die Überlebensrate in den drei Gruppen des Tumortyps signifikant voneinander. Den günstigsten Verlauf zeigten Patientinnen mit den heterogenen und seltenen (n=26) Tumoren, die als „andere“ zusammengefasst wurden. Den ungünstigsten Verlauf besaßen Patientinnen mit solid-duktalem Karzinomen, die sich jedoch von den lobulären Mammakarzinomen graphisch kaum unterschieden (Abb. 24).

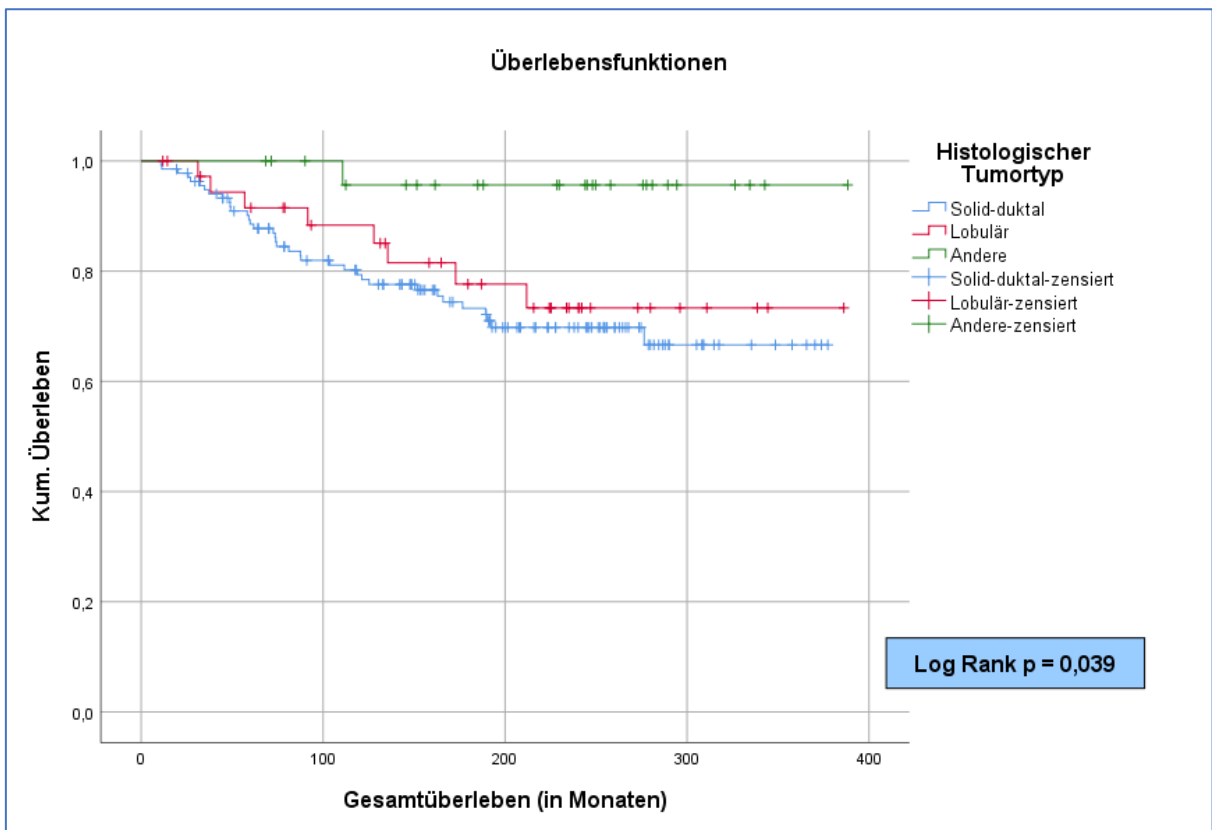


Abbildung 24: Analyse des Gesamtüberlebens für den histologischen Tumortyp

Dieses Resultat fand sich in gleicher Weise bei der Betrachtung des metastasenfremen Überlebens (Abb. 25), wobei die Kurvenverläufe von duktalem und lobulärem Karzinom langstreckig identisch waren.

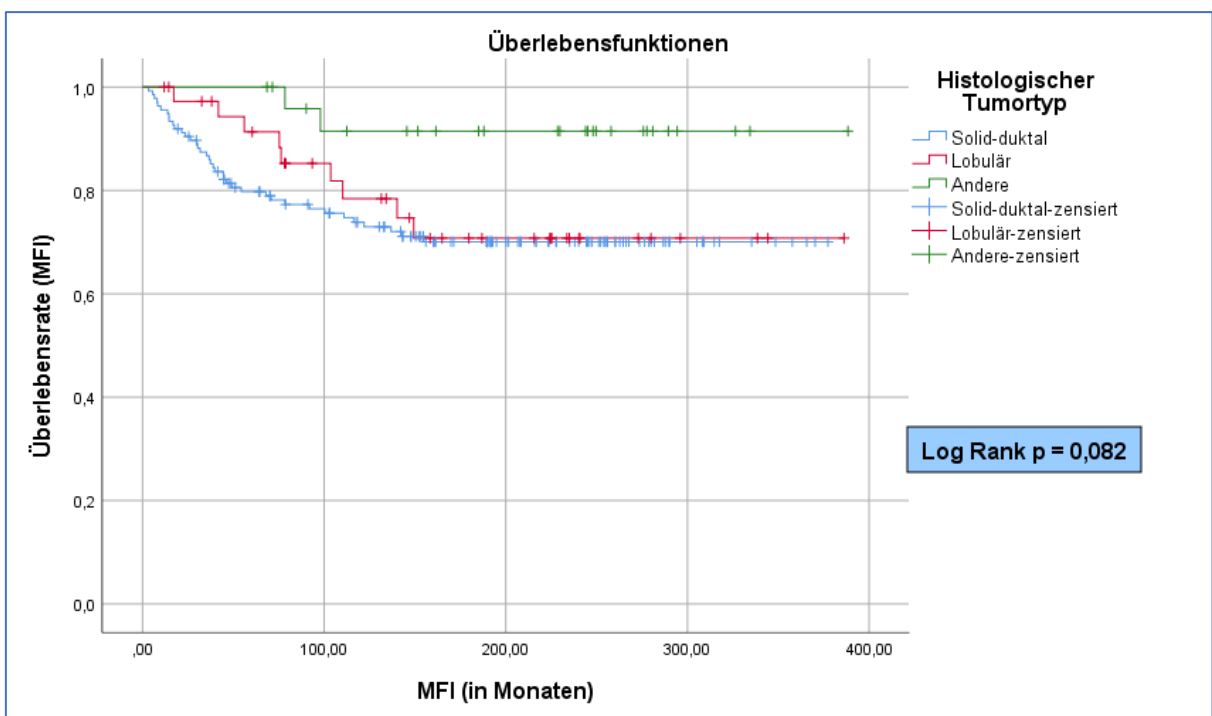


Abbildung 25: Analyse des metastasenfremen Überlebens für den histologischen Tumortyp

Tumorstadium

Der Krankheitsverlauf erwies sich bei den wenigen Patientinnen im Tumorstadium pT3 als signifikant schlechter. In dieser Gruppe verstarben die Patientinnen allesamt am Tumor. Die Stadien pT1 und pT2 unterschieden sich jedoch nicht voneinander (Abb. 26). Ein praktisch identisches Ergebnis zeigte die Betrachtung des metastasenfreien Überlebens (Abb. 27).

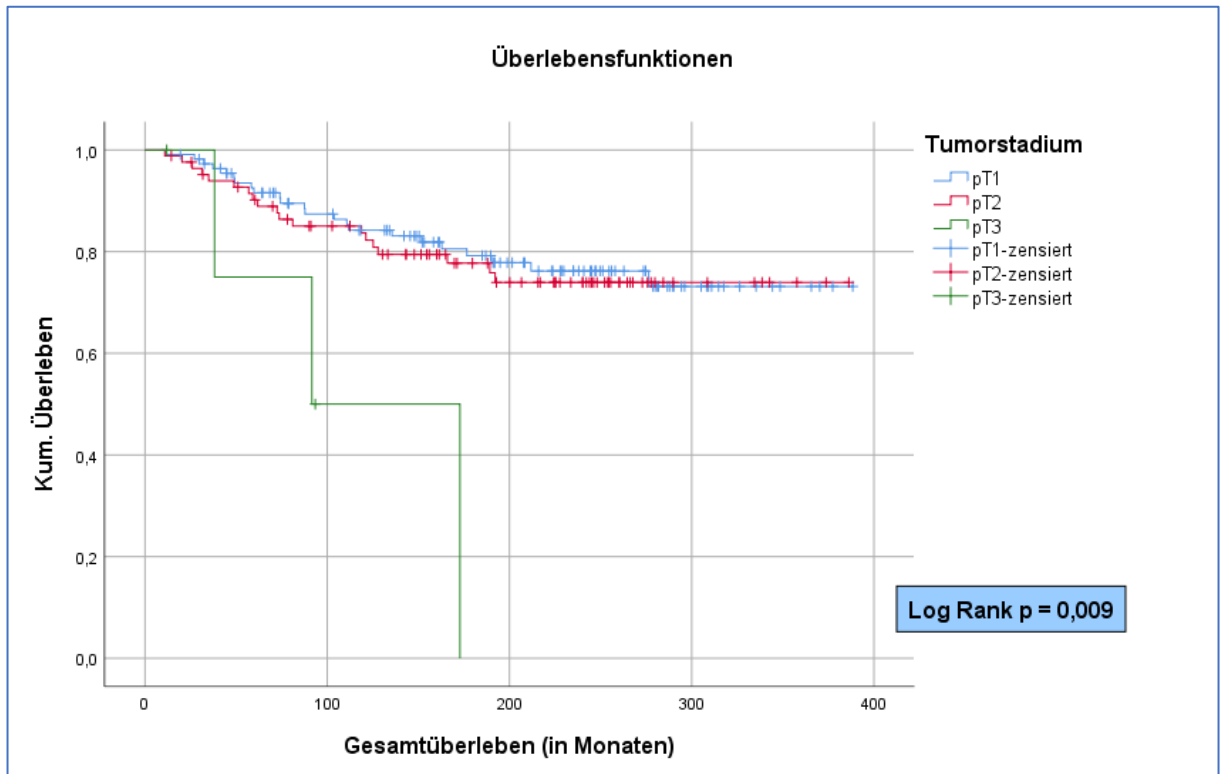


Abbildung 26: Analyse des Gesamtüberlebens für das Tumorstadium

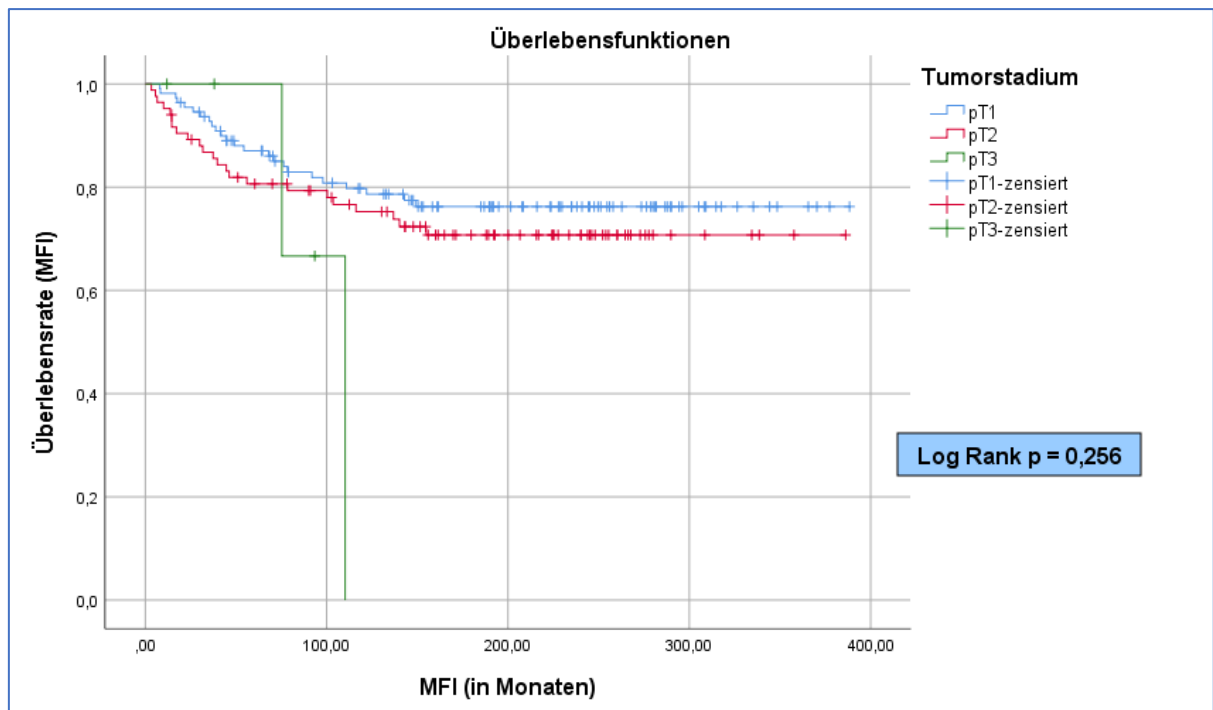


Abbildung 27: Analyse des metastasenfreien Überlebens für das Tumorstadium

Angioinvasion

Der histologische Nachweis einer Angioinvasion war im Untersuchungskollektiv mit einer signifikant schlechteren Prognose im Gesamtüberleben (Abb. 28) wie auch im metastasenfreien Überleben assoziiert (Abb. 29).

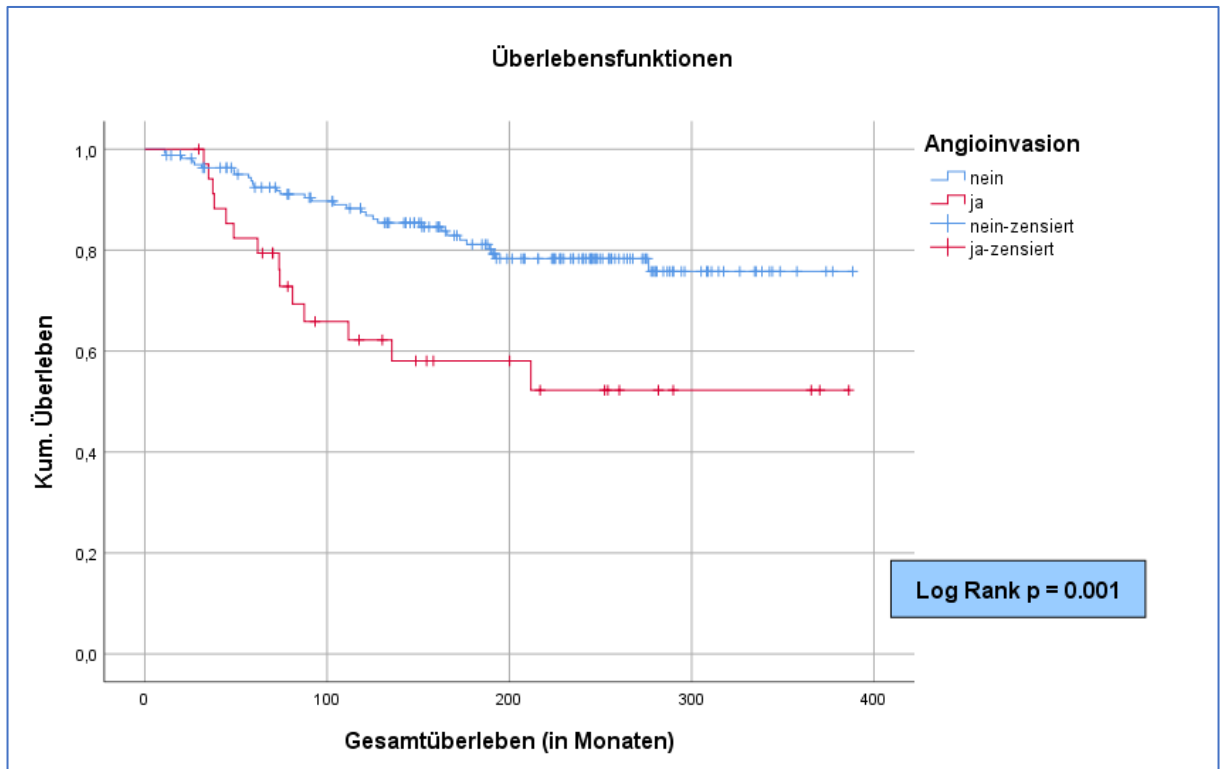


Abbildung 28: Analyse des Gesamtüberlebens für die Angioinvasion

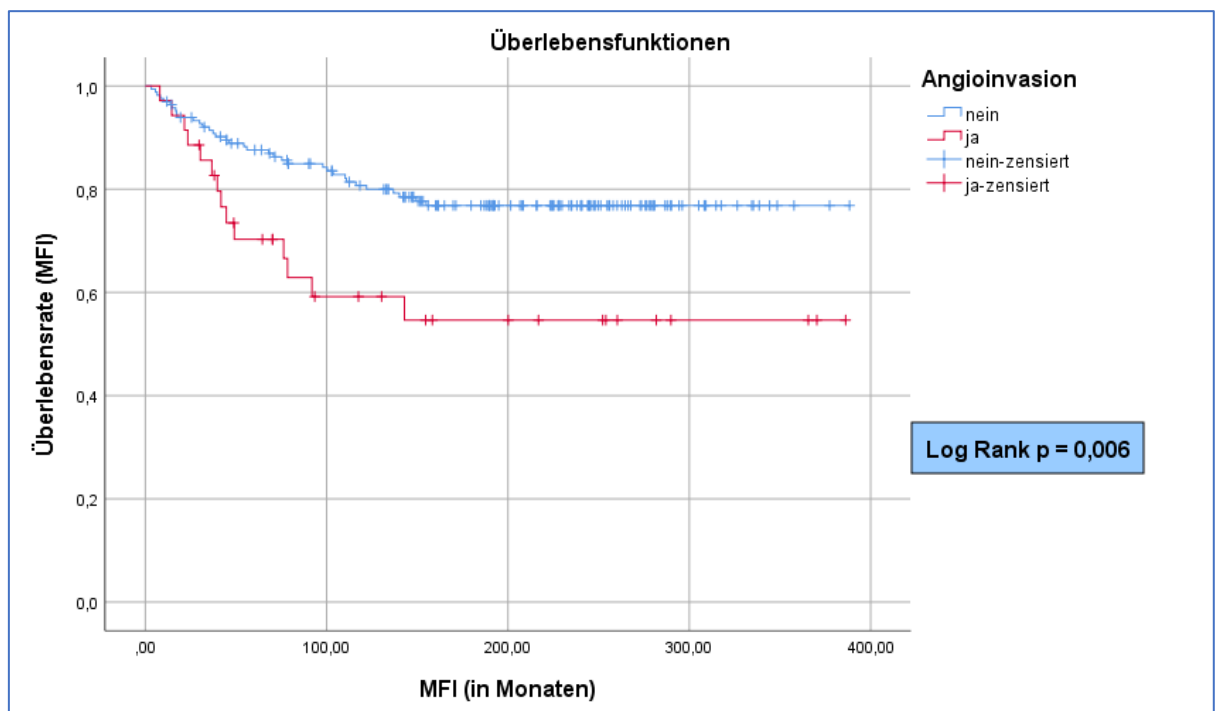


Abbildung 29: Analyse des metastasenfreien Überlebens für die Angioinvasion

Malignitätsgrad

Ein identisches Bild ergab die Betrachtung des histologischen Malignitätsgrades. Alle drei Gruppen unterschieden sich signifikant in der Prognose voneinander, sowohl im Gesamtüberleben (Abb. 30) als auch im metastasenfreien Überleben (Abb. 31).

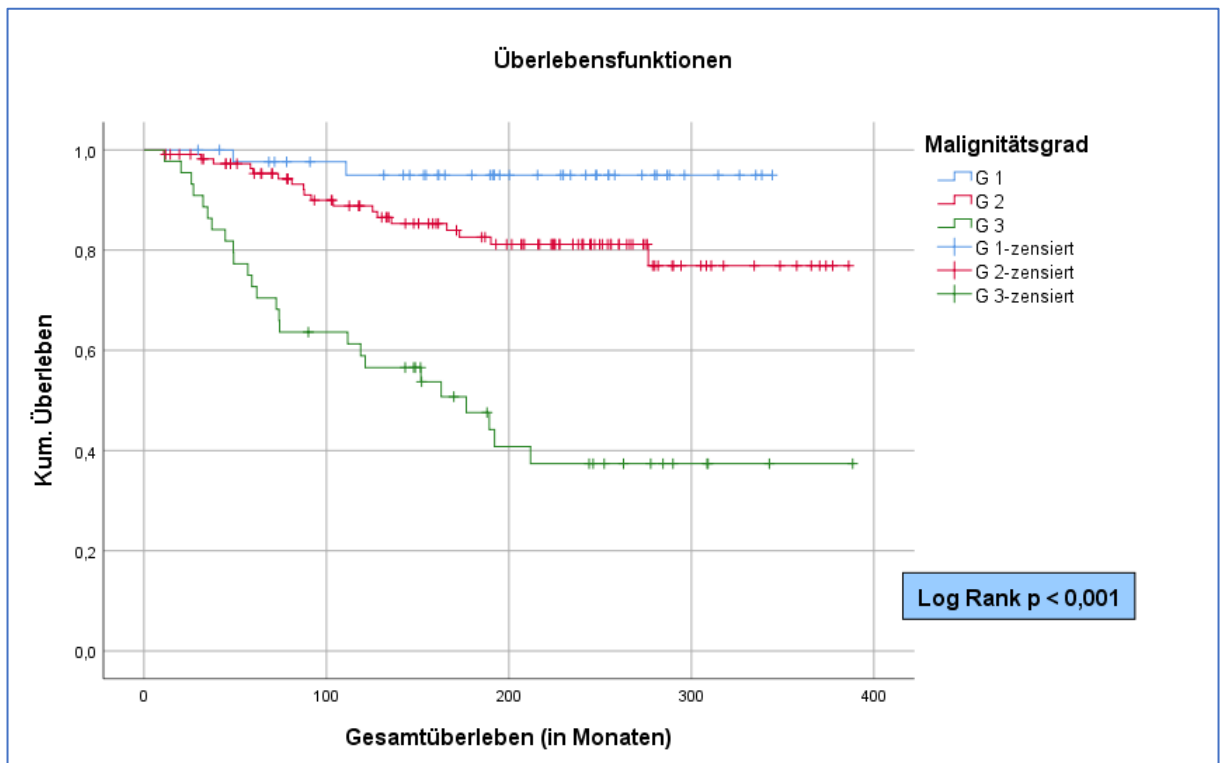


Abbildung 30: Analyse des Gesamtüberlebens für den Malignitätsgrad

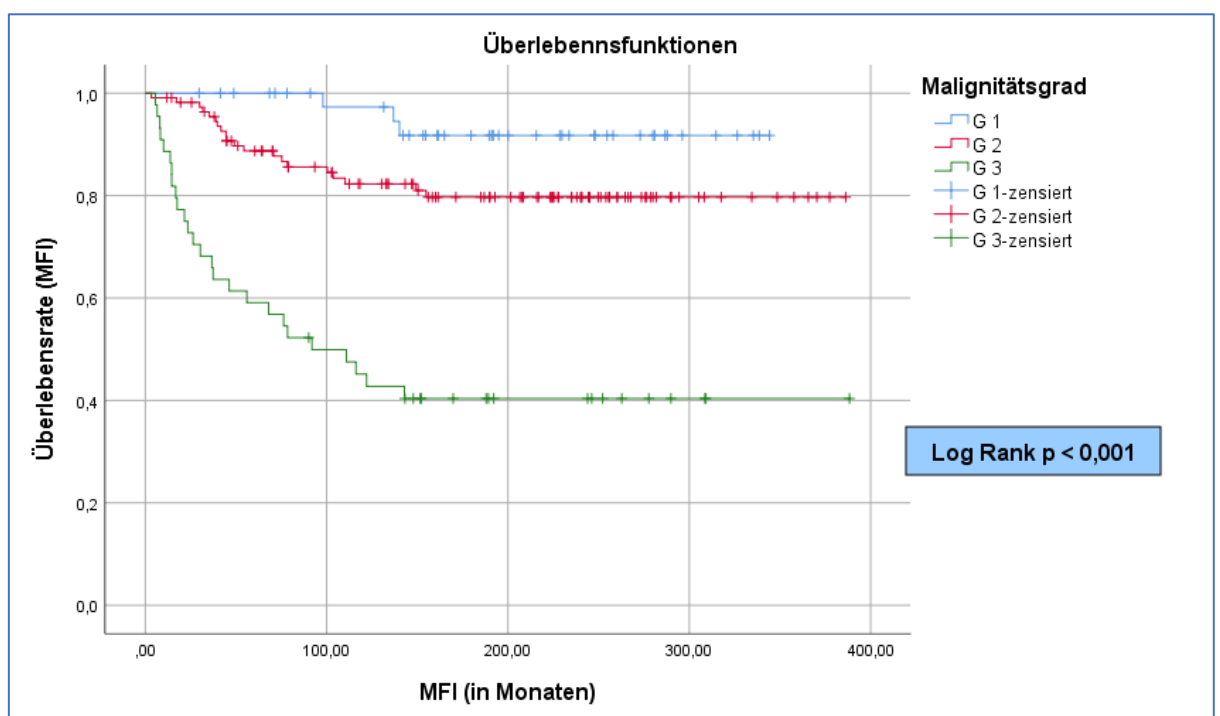


Abbildung 31: Analyse des metastasenfreien Überlebens für den Malignitätsgrad

Tumorproteasen

uPA und PAI-1 waren im untersuchten Kollektiv nur in etwas mehr als der Hälfte der Fälle bestimmt worden (n=118). Da für dieses Bestimmungsverfahren wegen der Thermolabilität eine lückenlose Kühlkette der untersuchten Proben unabdingbar war, ließen sich auch keine Nachbestimmungen mehr durchführen. Beide Parameter zeigten im Untersuchungskollektiv keine prognostische Wertigkeit (Abb. 32 bis Abb. 35).

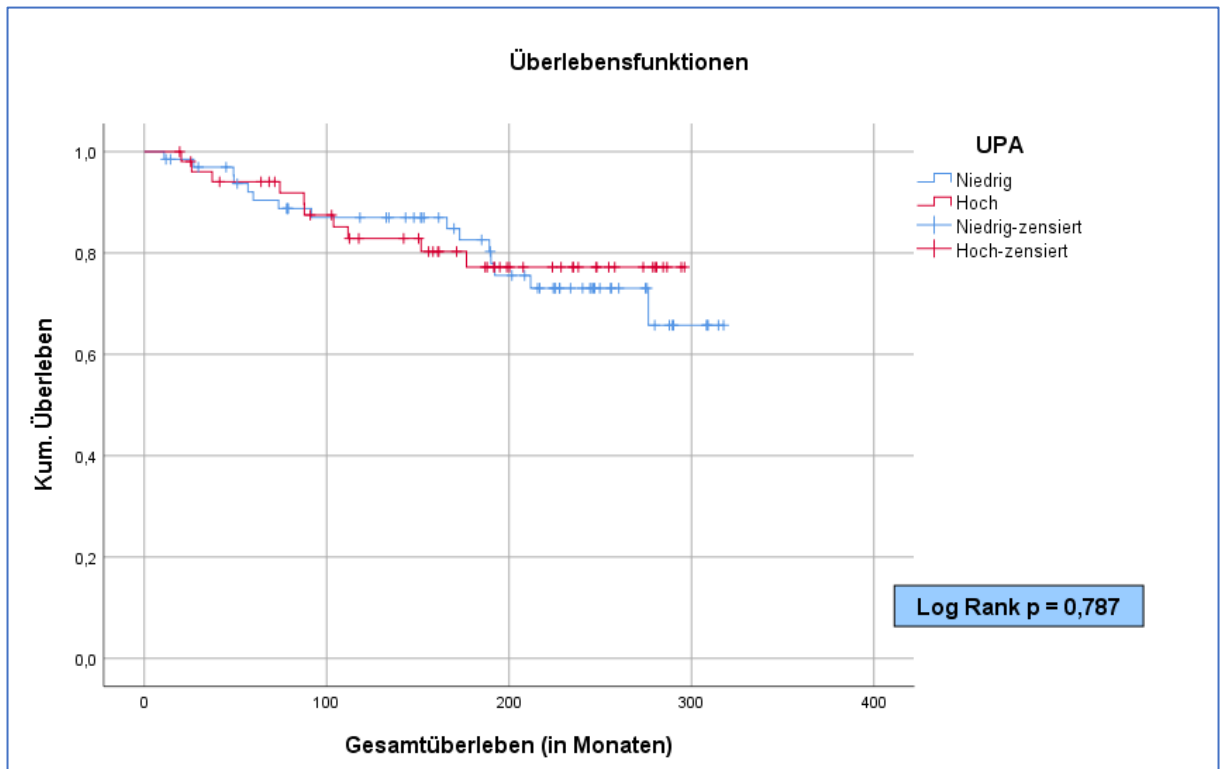


Abbildung 32: Analyse des Gesamtüberlebens für die uPA-Expression

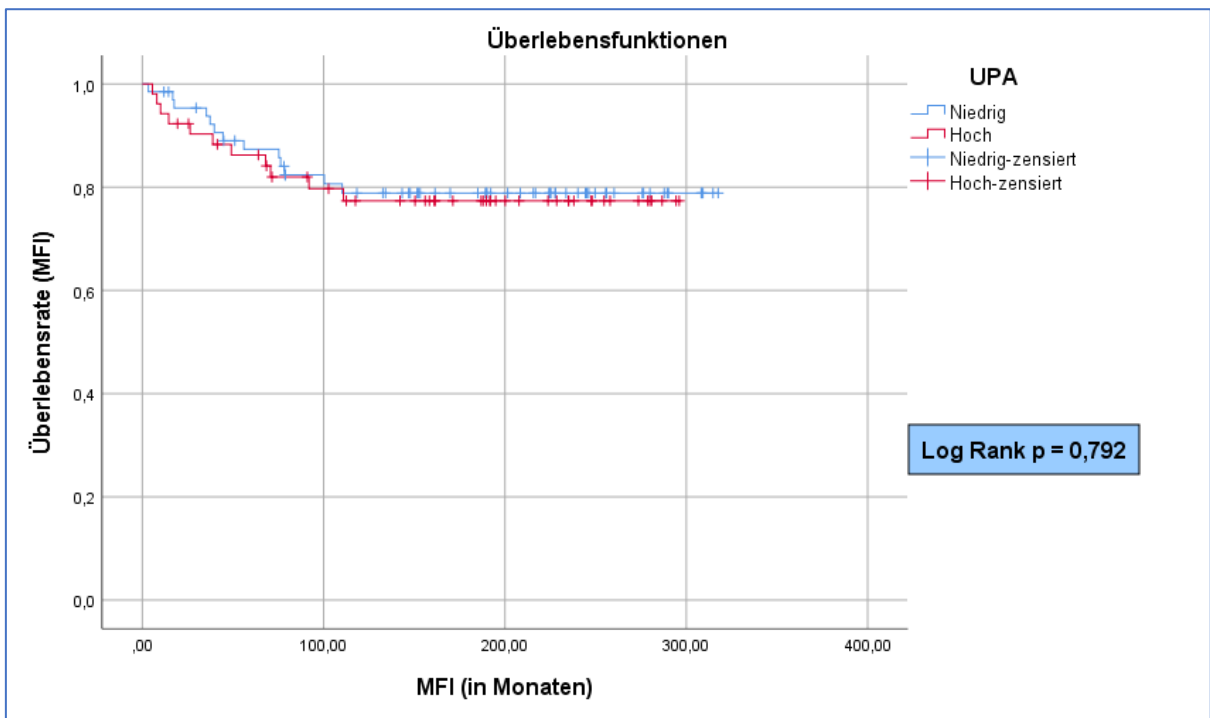


Abbildung 33: Analyse des metastasenfreien Überlebens für die uPA-Expression

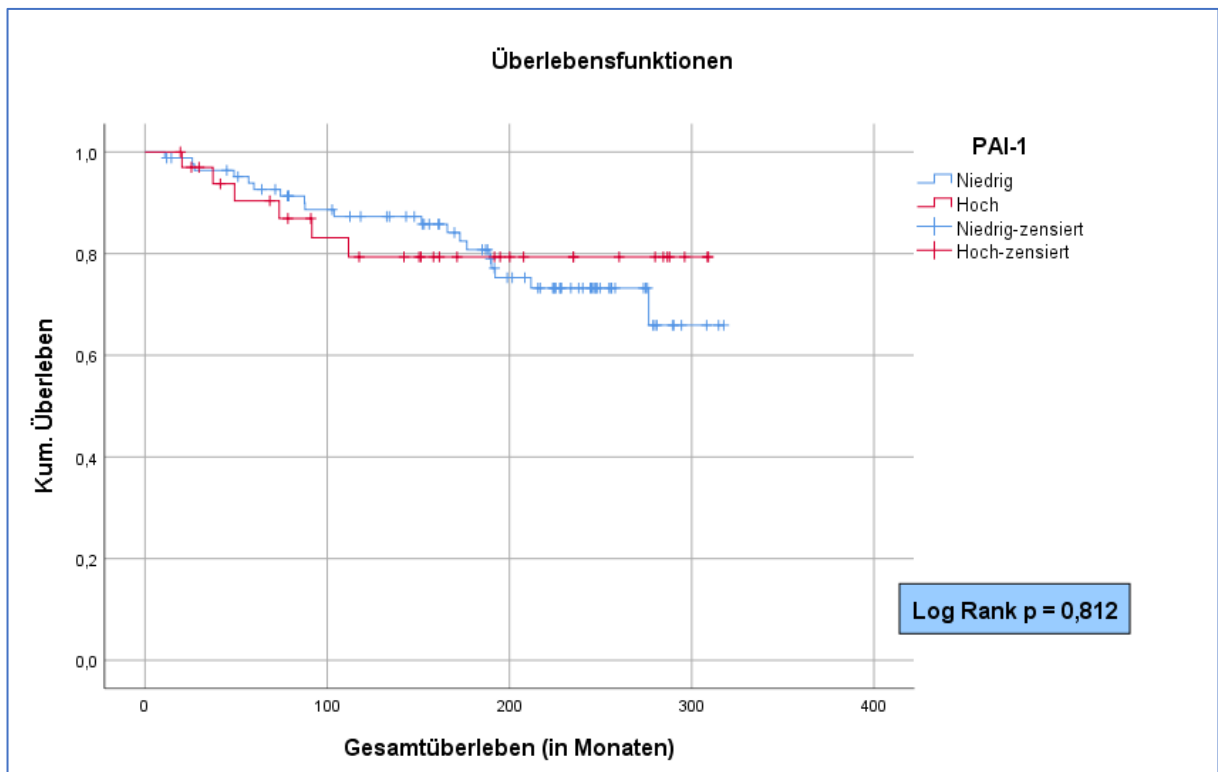


Abbildung 34: Analyse des Gesamtüberlebens für die PAI-1-Expression

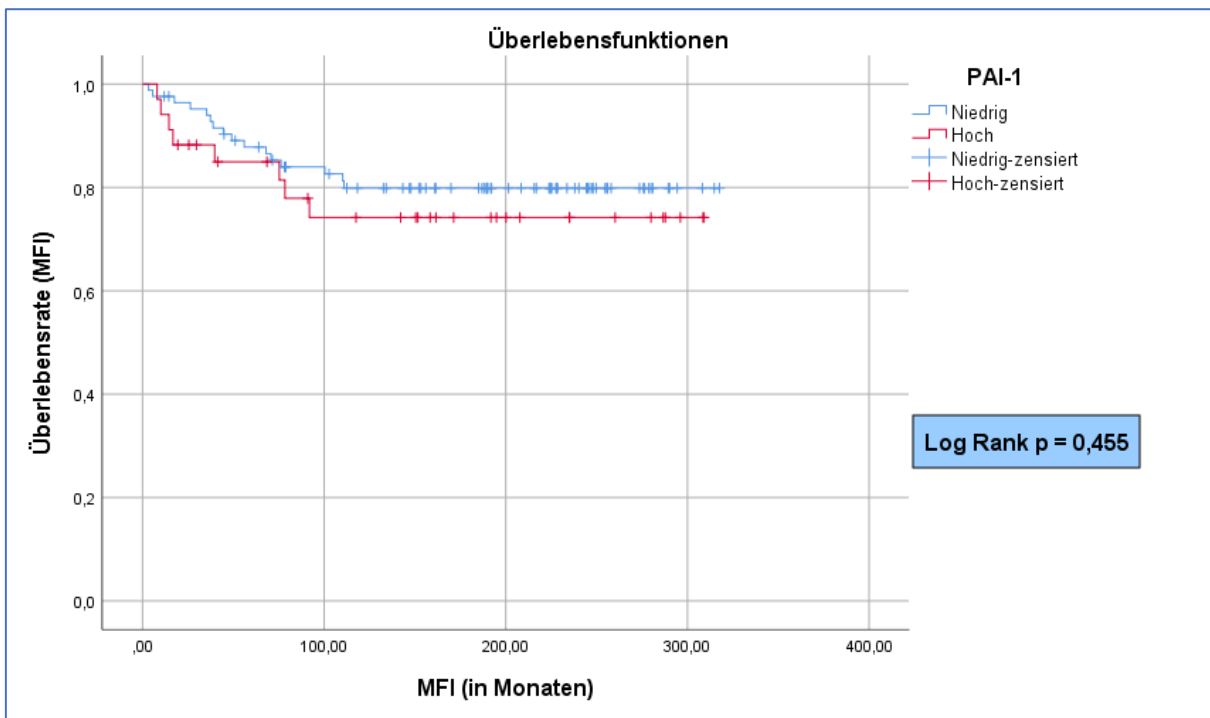


Abbildung 35: Analyse des metastasenfreien Überlebens für die PAI-1-Expression

Hormonrezeptorexpression

Die Berechnungen der Überlebensfunktionen waren für den positiven Nachweis der Östrogenrezeptoren mit einer besseren Prognose verbunden, die jedoch das Signifikanzniveau knapp verfehlte (Abb. 36).

Im Unterschied dazu sieht man bei der Betrachtung des metastasenfreien Intervalls einen knapp signifikanten Unterschied (Abb. 37).

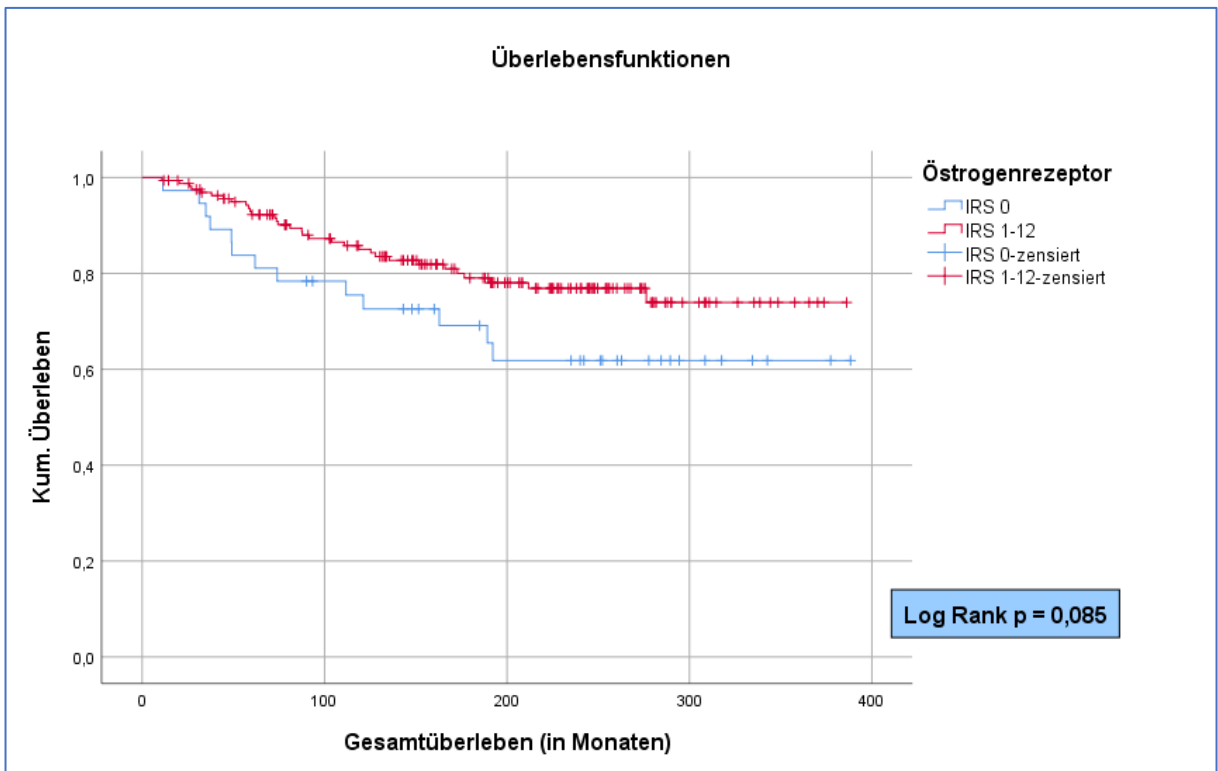


Abbildung 36: Analyse des Gesamtüberlebens für die Östrogenrezeptor-Expression

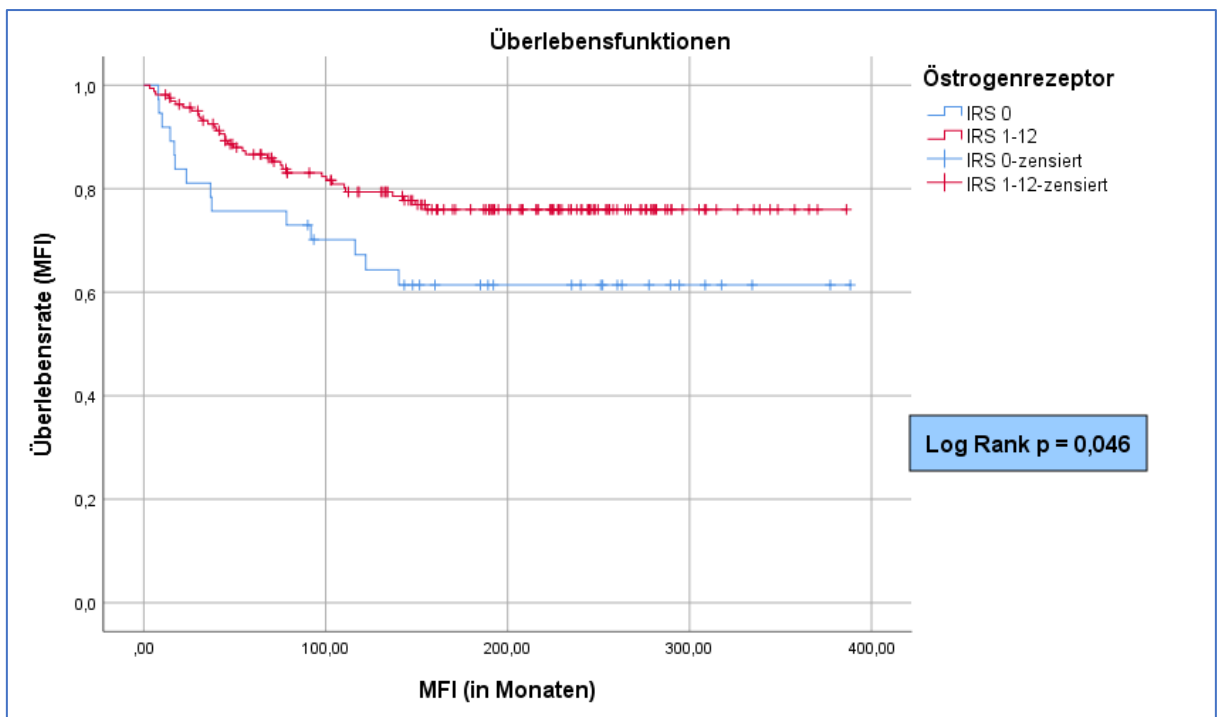


Abbildung 37: Analyse des metastasenfreien Überlebens für die Östrogenrezeptor-Expression

Obwohl der graphische Kurvenverlauf sehr ähnlich war wie bei den Östrogenrezeptoren, ergab sich für positive Progesteronrezeptoren ein signifikant besseres Ergebnis

(Abb. 38, Abb. 39).

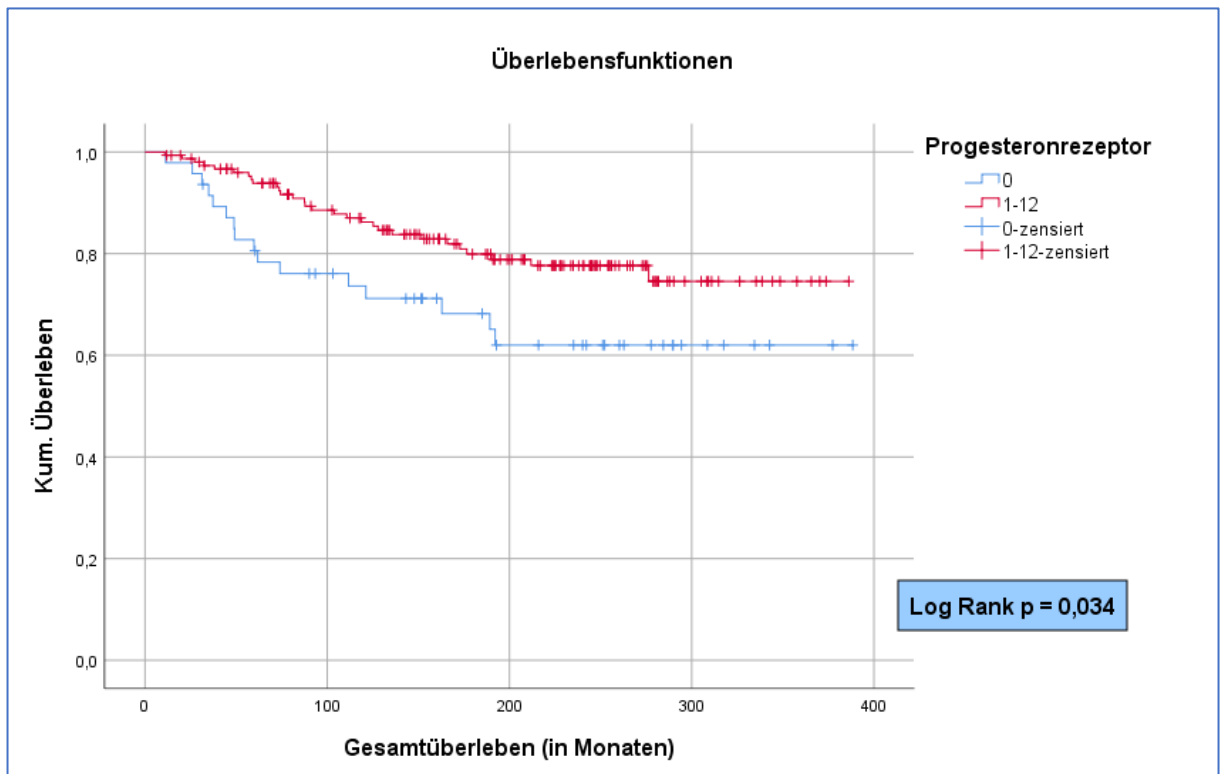


Abbildung 38: Analyse des Gesamtüberlebens für die Progesteronrezeptor-Expression

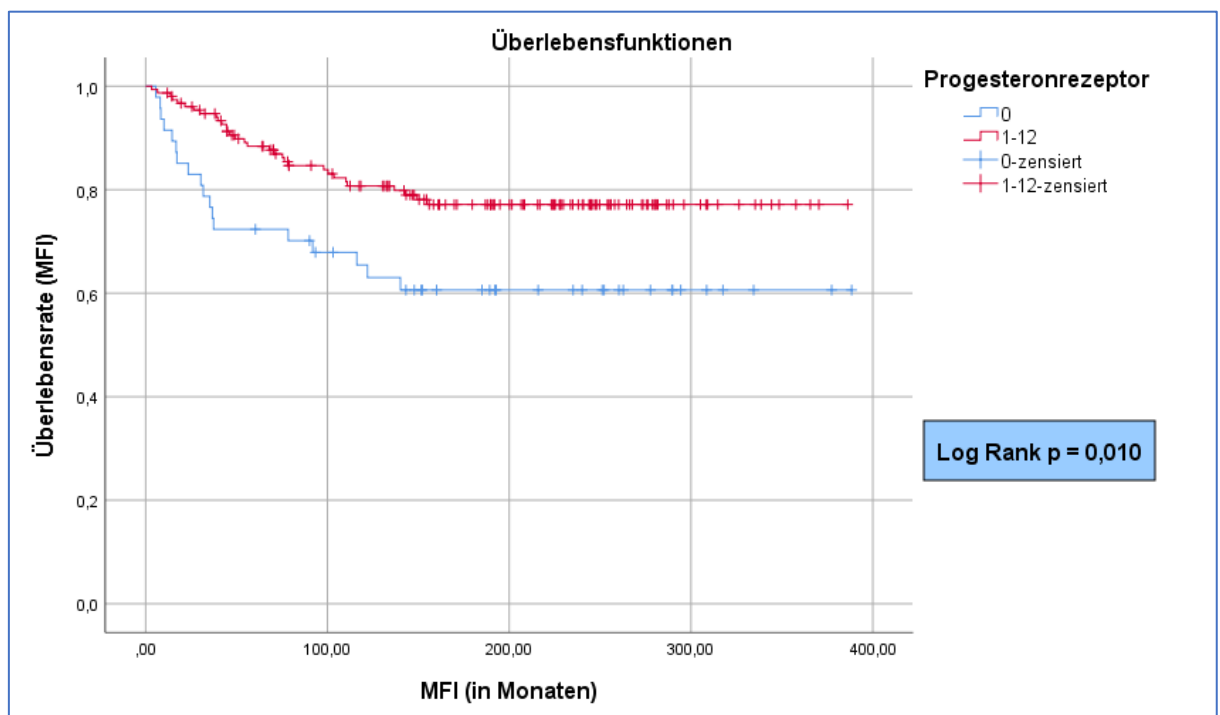


Abbildung 39: Analyse des metastasenfreien Überlebens für die Progesteronrezeptor-Expression

Wachstumsfraktion

Ein eindeutiges Ergebnis erbrachte die Untersuchung der Tumorpheriferation sowohl für die Gesamtüberlebensrate (Abb. 40) als auch für die metastasenfreie Überlebensrate (Abb. 41). Tumoren mit einer Proliferationsrate von höher als 20% waren in der Überlebensfunktion signifikant ungünstiger.

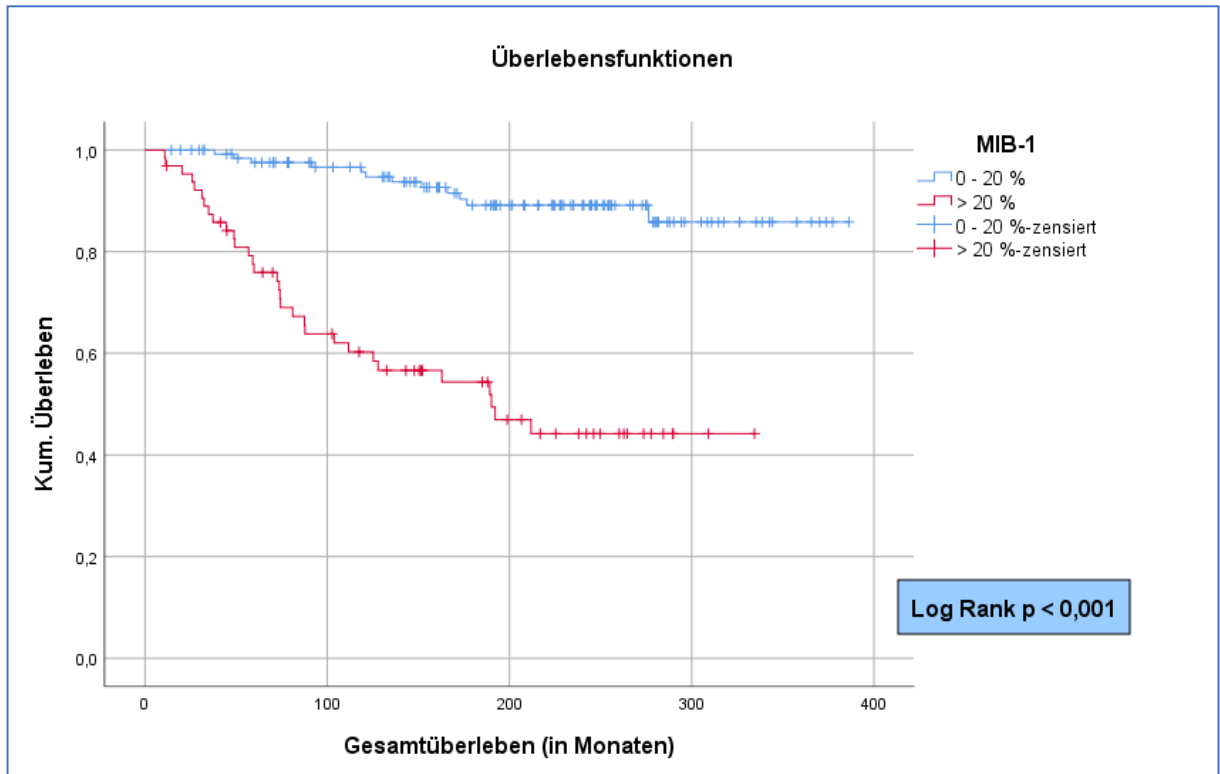


Abbildung 40: Analyse des Gesamtüberlebens für die Wachstumsfraktion

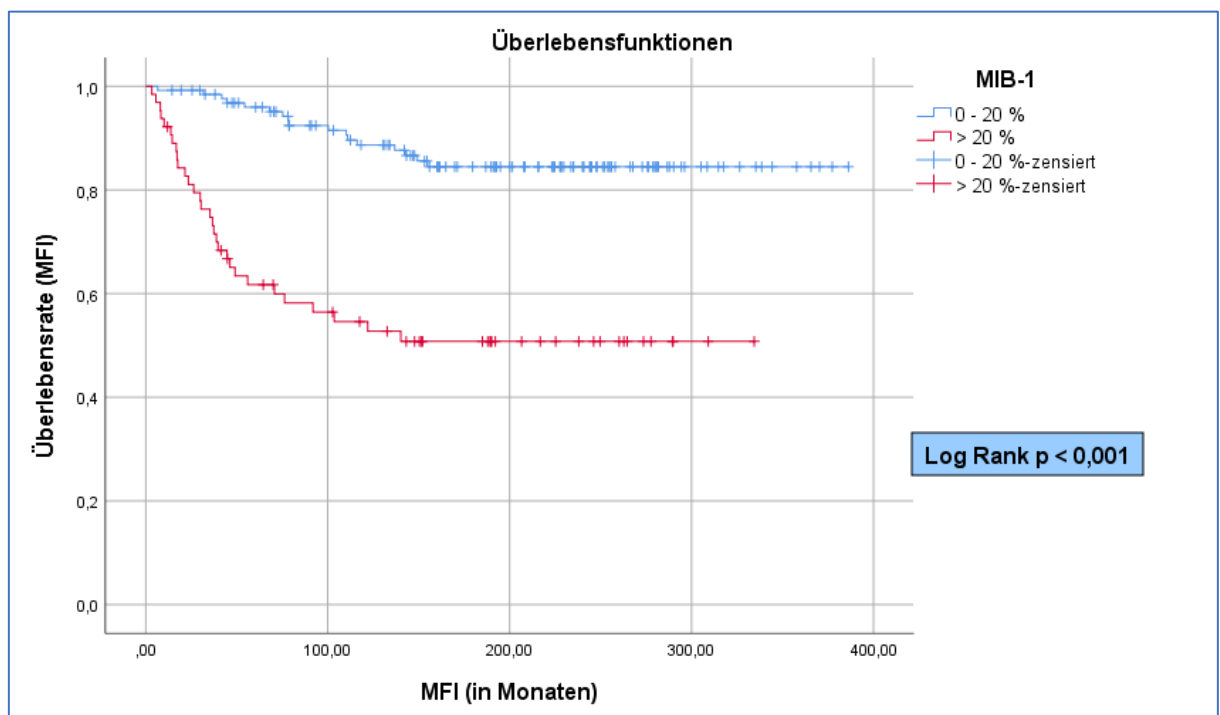


Abbildung 41: Analyse des metastasenfreien Überlebens für die Wachstumsfraktion

HER2- Überexpression

Erwartungsgemäß zeigte sich in einem unbehandelten Patientinnenkollektiv eine HER2-Überexpression als signifikantes Kriterium (Abb. 42, Abb. 43). Die Patientinnen mit HER2-positiven Karzinomen wiesen eine schlechtere Prognose auf.

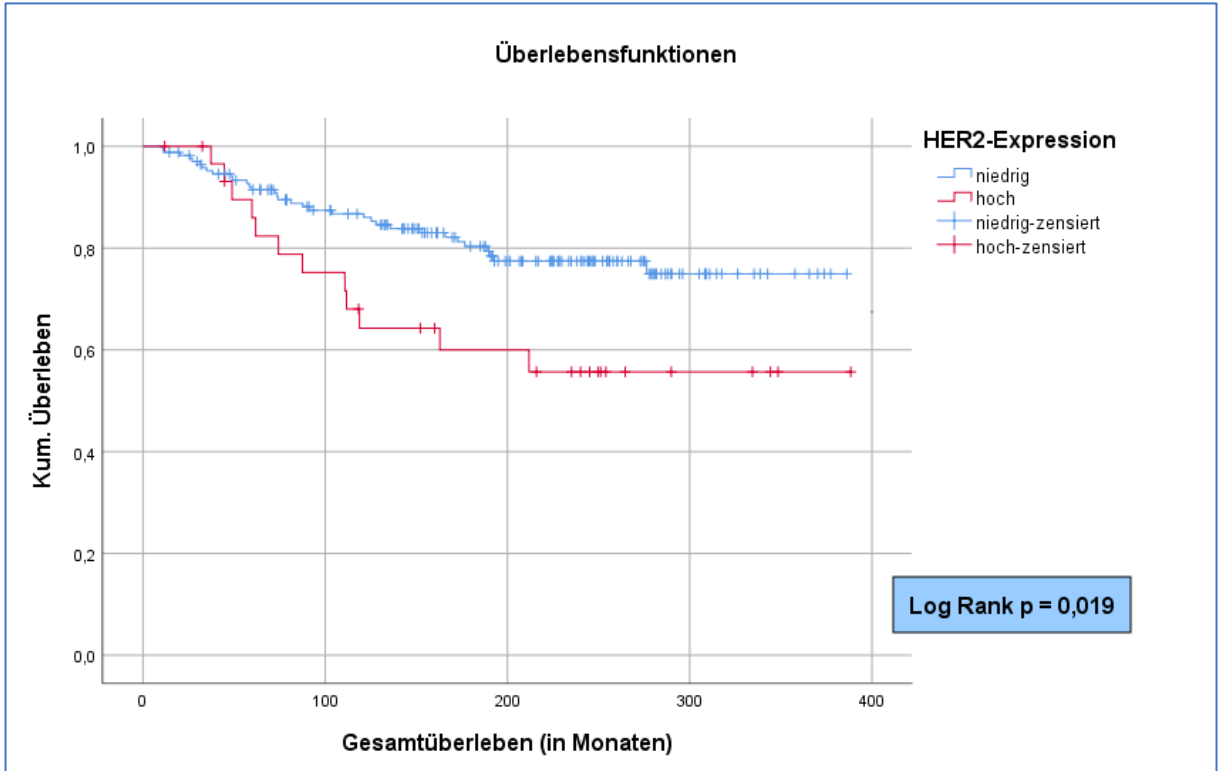


Abbildung 42: Analyse des Gesamtüberlebens für HER2-Überexpression

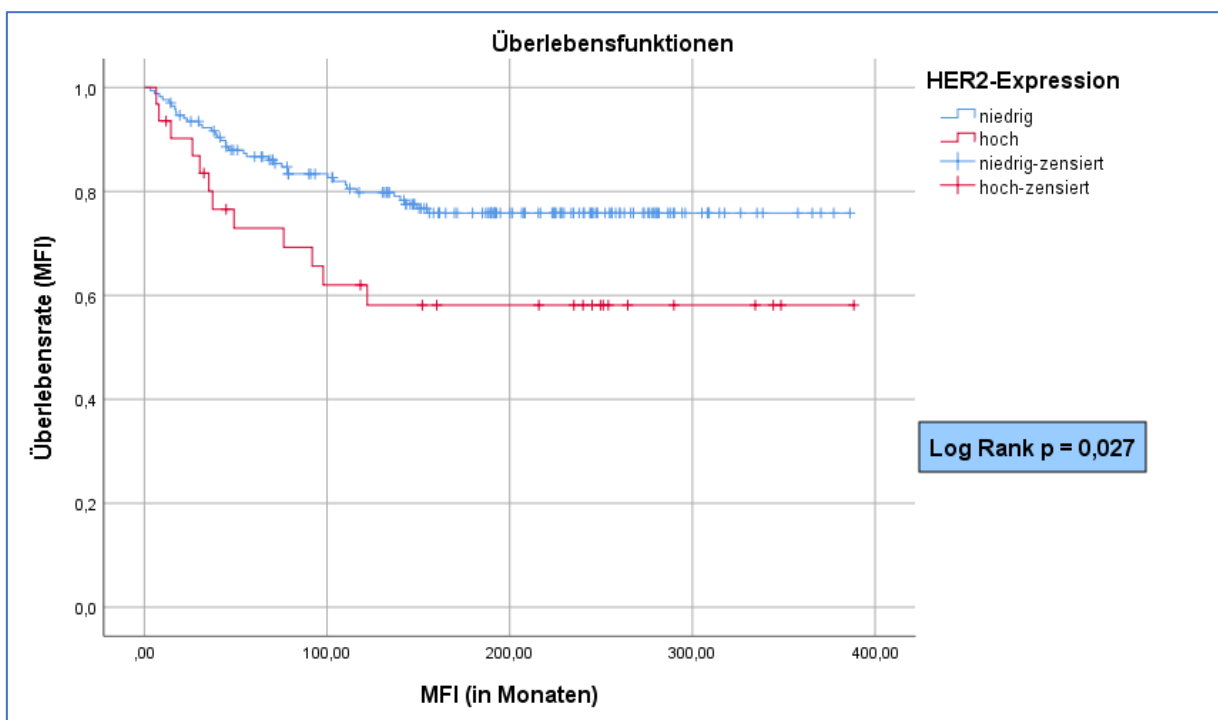


Abbildung 43: Analyse des metastasenfreien Überlebens für HER2-Überexpression

Intrinsische Subtypen

Die Bestimmung der intrinsischen Subtypen erwies sich als signifikant für den Krankheitsverlauf (Abb. 44, Abb. 45).

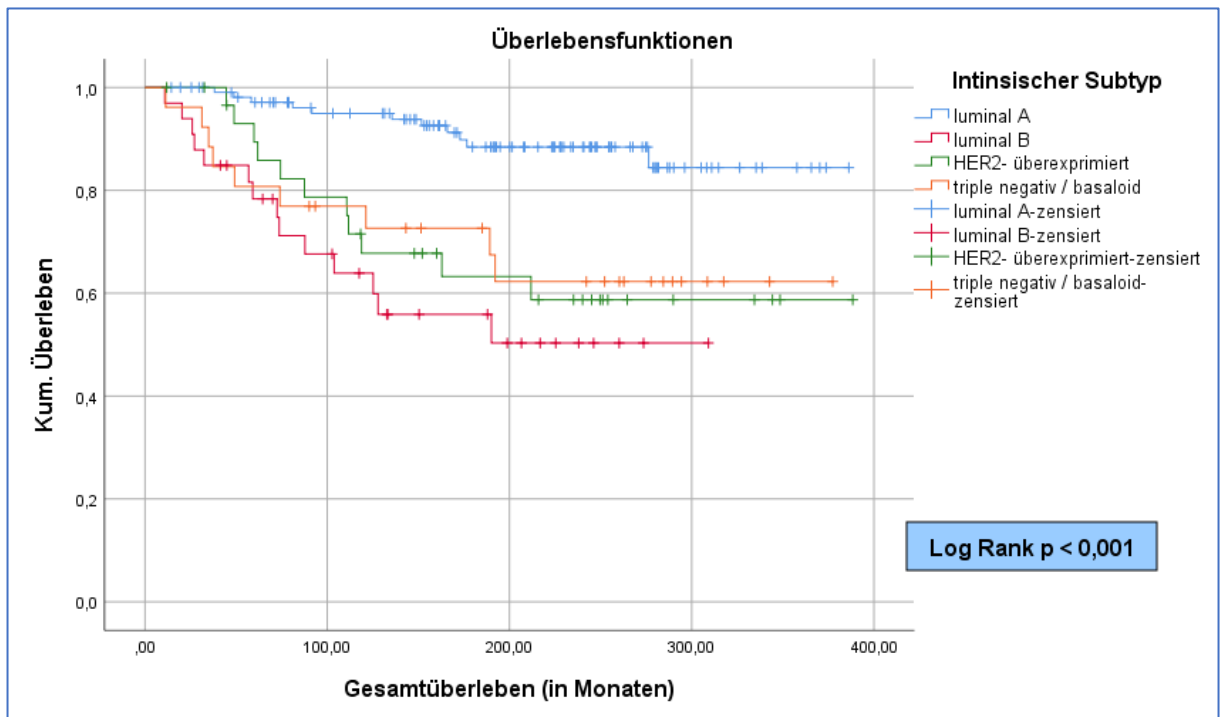


Abbildung 44: Analyse des Gesamtüberlebens für die intrinsischen Subtypen

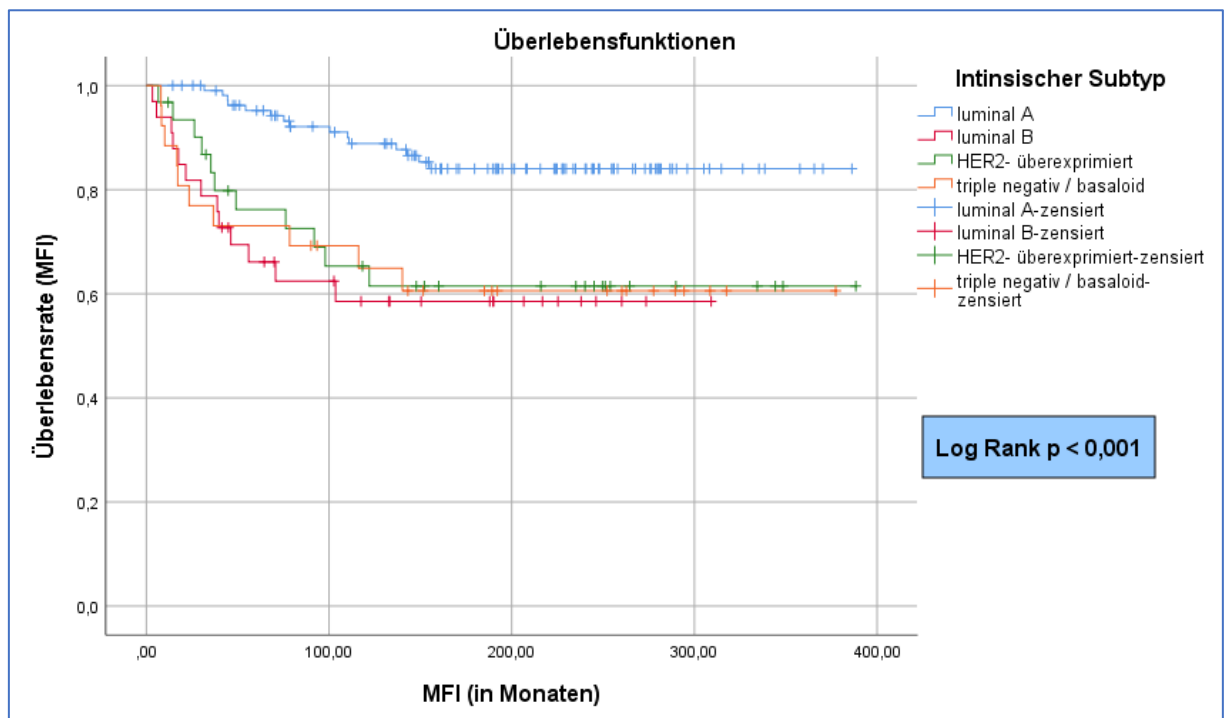


Abbildung 45: Analyse des metastasenfreien Überlebens für die intrinsischen Subtypen

Sowohl für das Gesamtüberleben als auch für das metastasenfrie Überleben unterschieden sich im vorliegenden Ansatz nur die Luminal-A-Tumoren als statistisch günstiger in der Überlebenswahrscheinlichkeit als alle anderen Subtypen. Bei der Betrachtung des Kurvenverlaufes war dies im metastasenfrie Überleben noch deutlicher zu konstatieren.

4.5 Überlebensfunktionen (Kaplan-Meier-Analyse) in den Subgruppen

Es wurde untersucht, ob sich in den Subgruppen der prognostischen Faktoren unterschiedliche Krankheitsverläufe für Patientinnen mit hoher bzw. niedriger NFκB-Expression ergaben. Beispielsweise wurden bei Patientinnen im Tumorstadium pT1, im Tumorstadium pT2 oder im Tumorstadium pT3 die Kaplan-Meier-Analysen für beide NFκB-Gruppen berechnet.

Da sich hieraus sehr viele Berechnungen und (mögliche) Abbildungen ergaben, sind nur solche Berechnungen graphisch dargestellt, bei welchen sich Kurvenverläufe mit statistischer Signifikanz oder grenzwertigen Log Rank p -Werten fanden. Für alle eindeutig nichtsignifikanten Ergebnisse sind die berechneten p -Werte in Tabelle 8 subsummiert.

Keine Unterschiede ergaben sich für den histologischen Tumortyp, das Tumorstadium pT, die Angioinvasion, den Malignitätsgrad, die uPA-Expression, die Tumorphiliferation und die HER2-Expression. Dies galt übereinstimmend für das Gesamtüberleben und das metastasenfrie Überleben.

Tabelle 8: Kaplan-Meier-Analyse in NFκB-Subgruppen ohne signifikante p -Werte

Merkmals	Subgruppen	Log Rank p -Wert Gesamt- überleben	Log Rank p -Wert metastasenfrie Überleben
histologischer Tumortyp	solid-duktal	$p = 0,649$	$p = 0,656$
	lobulär	$p = 0,170$	$p = 0,322$
	andere	$p = 0,269$	$p = 0,123$
pT-Stadium	pT1	$p = 0,340$	$p = 0,255$
	pT2	$p = 0,375$	$p = 0,417$

	pT3	$p = 0,83$	nicht auswertbar
Angioinvasion	nein	$p = 0,399$	$p = 0,604$
	ja	$p = 0,711$	$p = 0,423$
Malignitätsgrad	G1	$p = 0,121$	$p = 0,355$
	G2	$p = 0,299$	$p = 0,648$
	G3	$p = 0,953$	$p = 0,569$
uPA	niedrig	$p = 0,602$	$p = 0,374$
	hoch	$p = 0,88$	$p = 0,217$
PAI-1	hoch	$p = 0,891$	$p = 0,811$
Östrogenrezeptor	IRS 0	$p = 0,585$	$p = 0,781$
Progesteronrezeptor	IRS 0	$p = 0,596$	$p = 0,657$
Tumorproliferation	0-20 %	$p = 0,377$	$p = 0,296$
	>20 %	$p = 0,598$	$p = 0,812$
HER2	niedrig	$p = 0,209$	$p = 0,232$
	hoch	$p = 0,358$	$p = 0,354$
Intrinsischer Tumortyp	Luminal B	$p = 0,232$	$p = 0,397$
	HER2 überexp.	$p = 0,355$	$p = 0,412$
	triple neg./bas.	$p = 0,414$	$p = 0,722$

Subgruppe PAI-1 = niedrig

Die Überlebensfunktionen für die NFκB-Expression in der Subgruppe „PAI-1 niedrig“ zeigte einen deutlich günstigeren Verlauf für Tumoren mit hoher NFκB-Expression (Abb. 46). Es errechnete sich jedoch für das Gesamtüberleben kein p -Wert kleiner als 5%.

Für das metastasenfremie Überleben lag der errechnete p -Wert dagegen knapp unter dem Signifikanzniveau (Abb. 47).

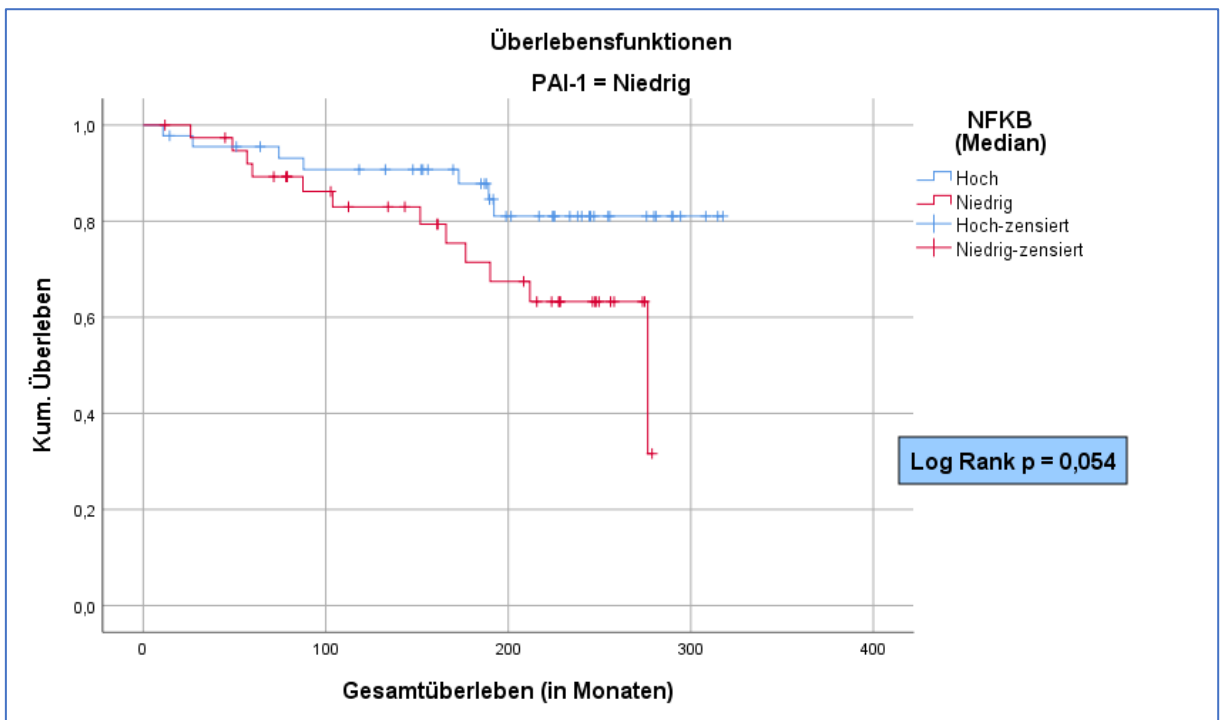


Abbildung 46: Kaplan-Meier-Analyse für die NFκB-Expression bei „PAI-1 niedrig“ (Gesamtüberleben)

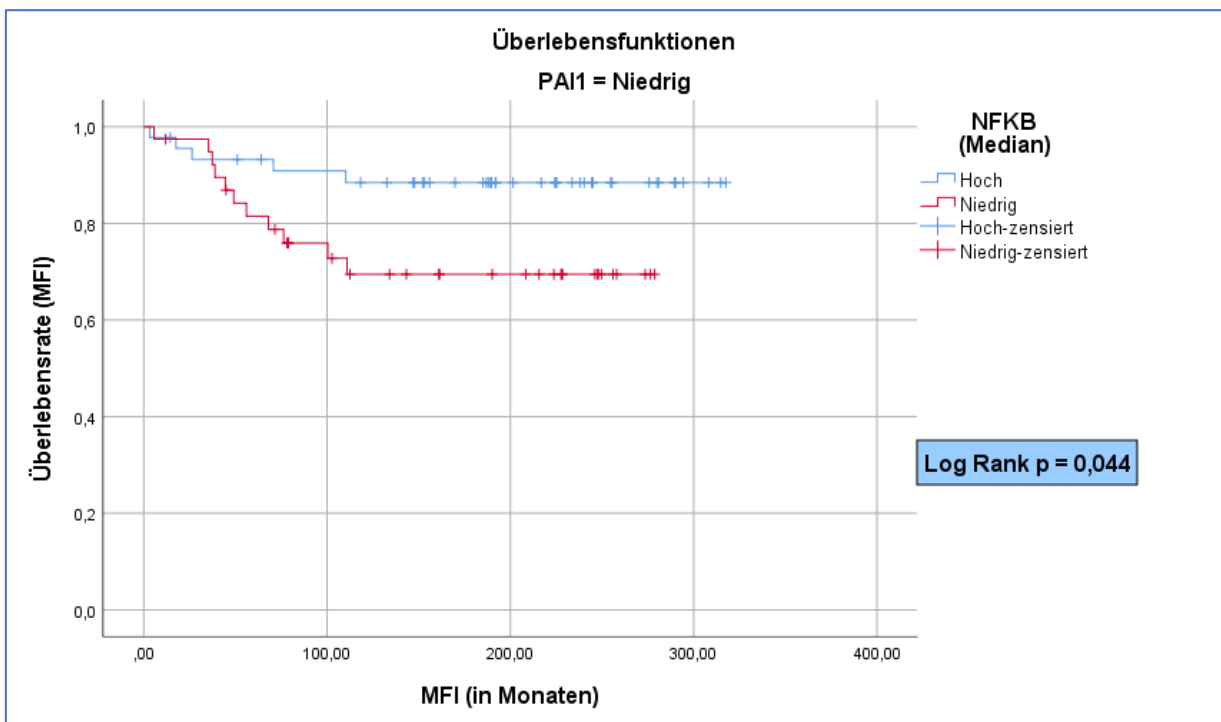


Abbildung 47: Kaplan-Meier-Analyse für die NFκB-Expression bei „PAI-1 niedrig“ (metastasenfreies Überleben)

Subgruppe östrogenrezeptorpositive Tumore

In der Subgruppe der östrogenrezeptorpositiven Tumore ergab sich ein günstigerer

Überlebensverlauf bei hoher NFκB-Expression, jedoch mit einem p -Wert größer als 0,05 (Abb. 48). Dies bestätigte sich für das metastasenfrees Überleben (Abb. 49).

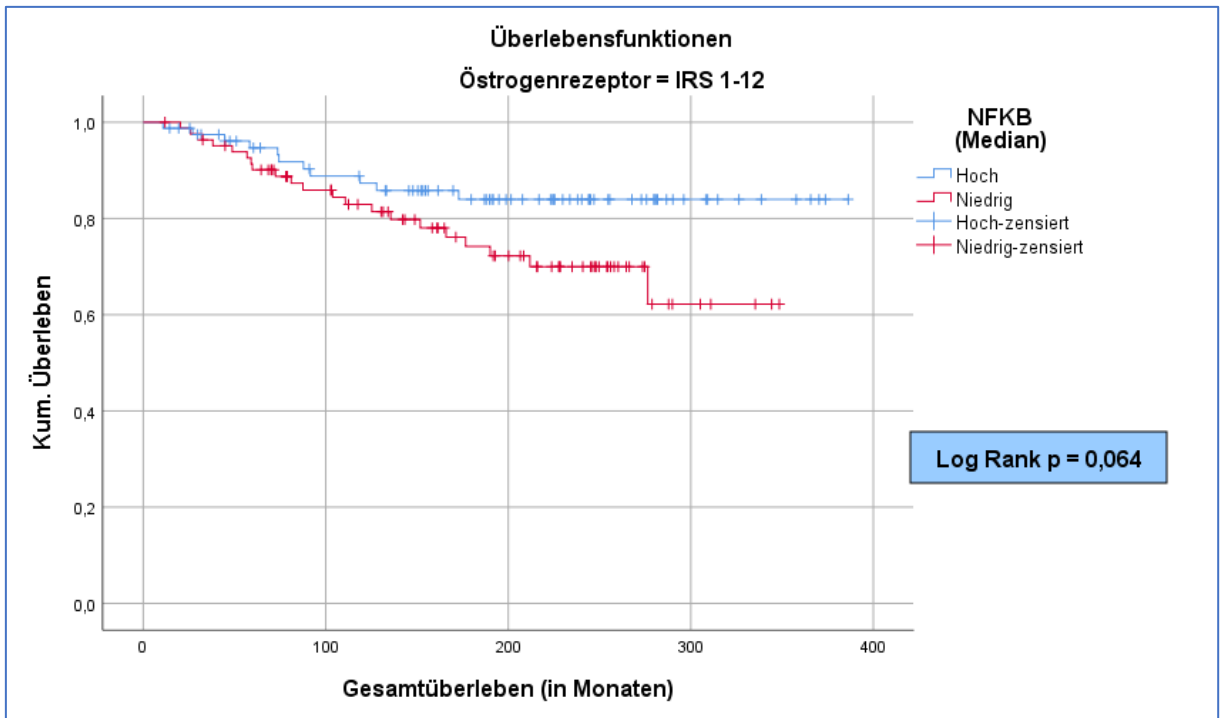


Abbildung 48: Kaplan-Meier-Analyse: NFκB in der Subgruppe „ER-positiv“ (Gesamtüberleben)

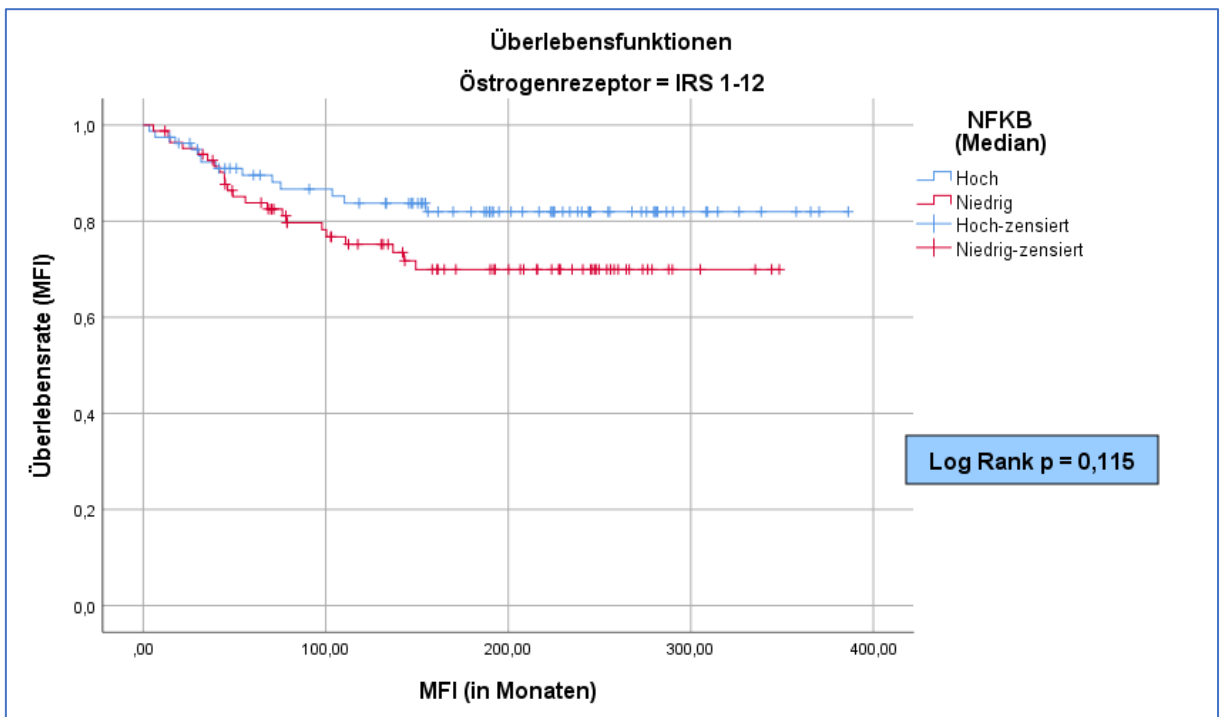


Abbildung 49: Kaplan-Meier-Analyse: NFκB in der Subgruppe „ER-positiv“ (metastasenfrees Überleben)

Subgruppe progesteronrezeptor-positive Tumore

Ein identisches Ergebnis sah man in der Subgruppe der progesteronrezeptor-positiven Karzinome (Abb. 50, Abb. 51). Auch hier waren die p-Werte außerhalb des Signifikanzbereiches.

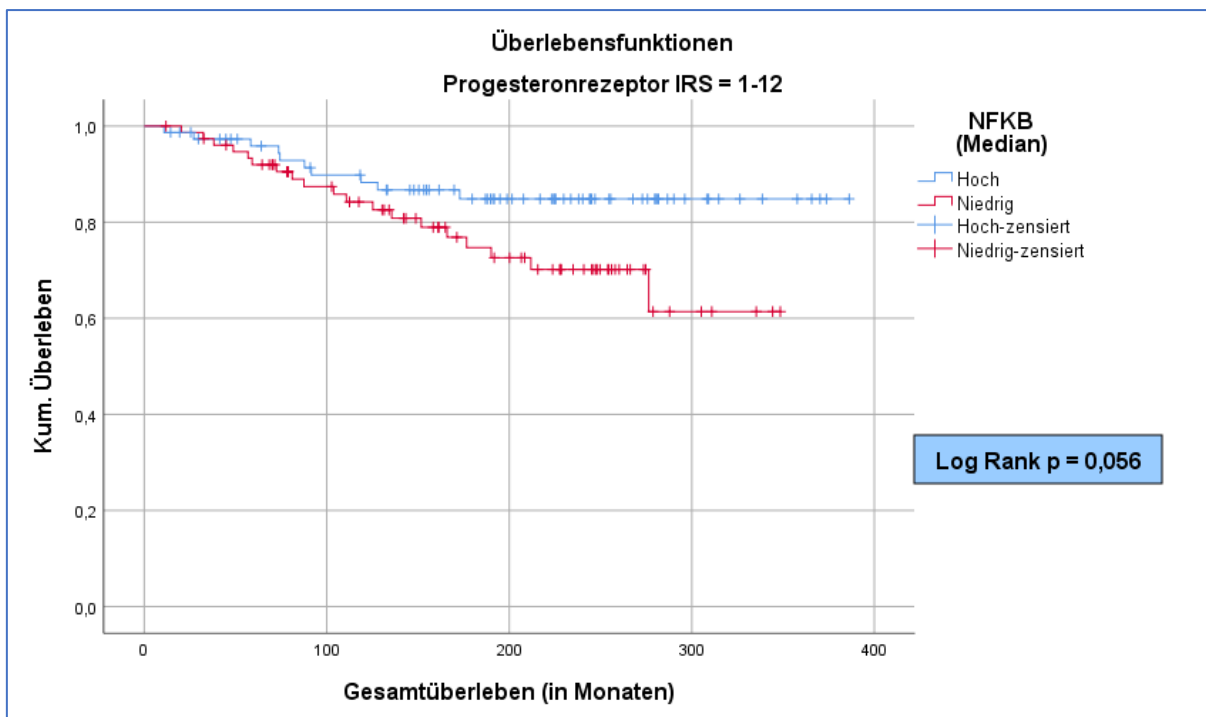


Abbildung 50: Kaplan-Meier-Analyse: NFKB in der Subgruppe „PR-positiv (Gesamtüberleben)

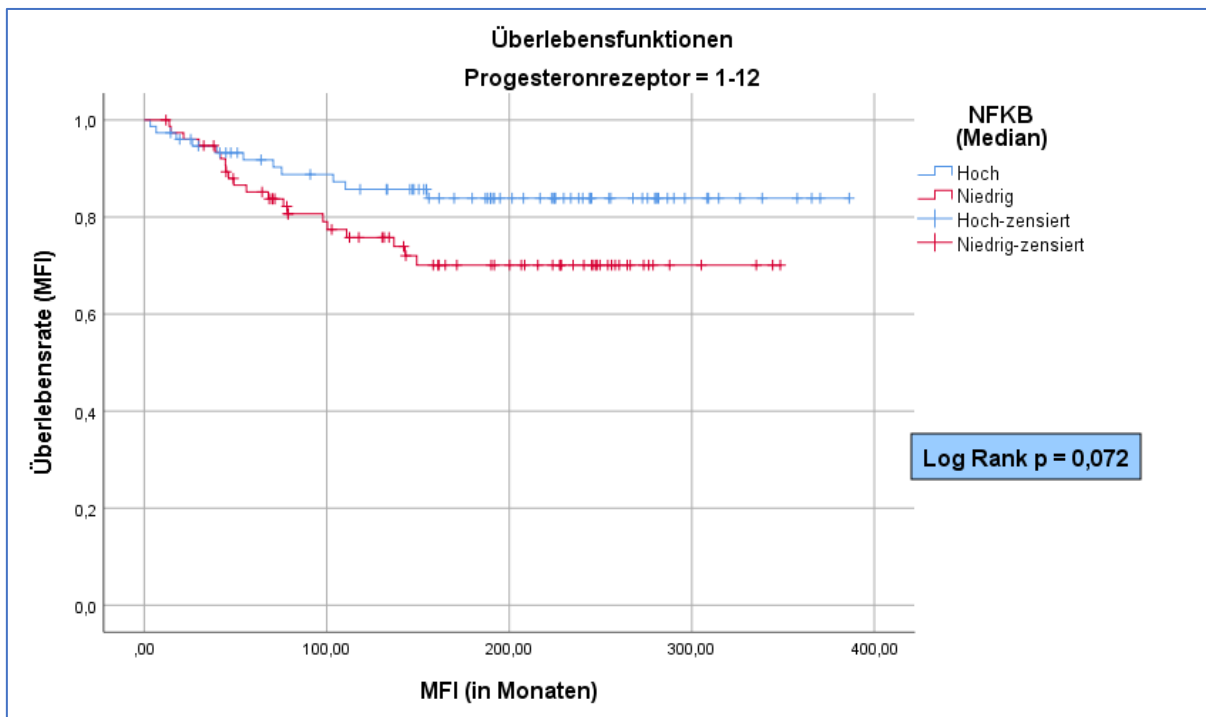


Abbildung 51: Kaplan-Meier-Analyse: NFKB in der Subgruppe „PR-positiv (metastasenfreies Überleben)

Subgruppe Intrinsischer Subtyp luminal A

Die Betrachtung der intrinsischen Subgruppe „luminal A“ ergab einen schwachen Zusammenhang hinsichtlich einer besseren Überlebenswahrscheinlichkeit bei einem Tumor mit hoher NFκB-Expression (Abb. 52).

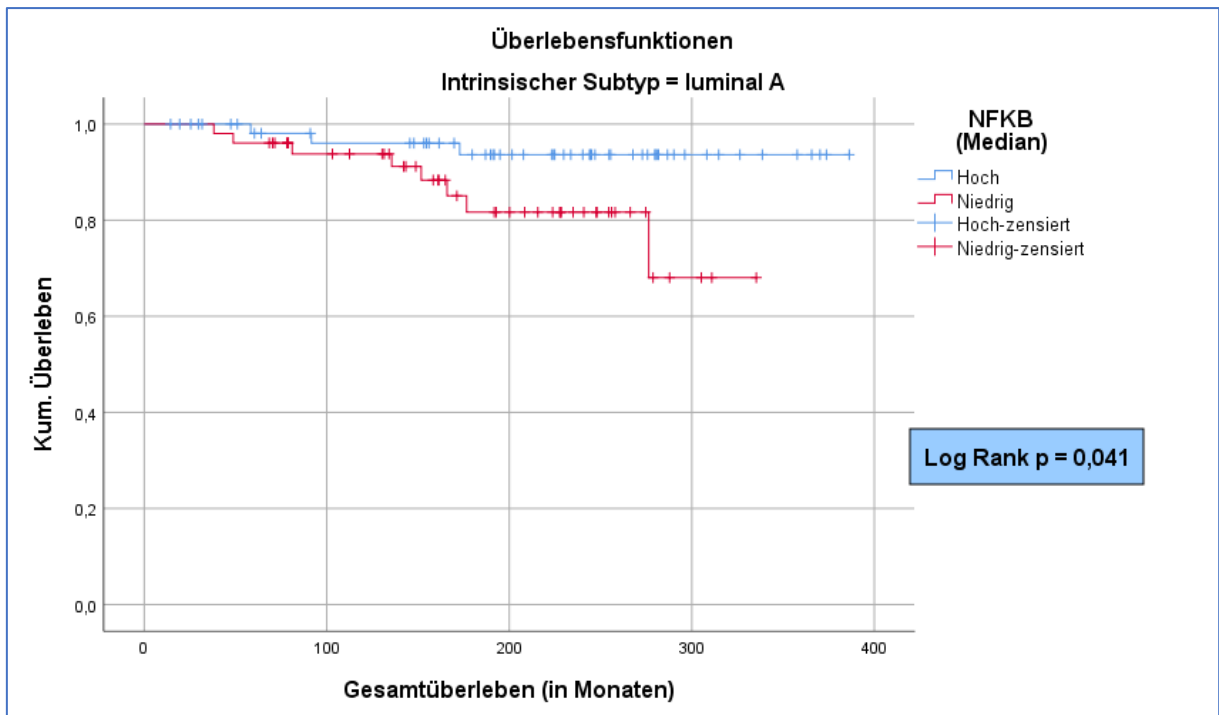


Abbildung 52: Kaplan-Meier-Analyse: NFκB in der Subgruppe „Luminal-A“ (Gesamtüberleben)

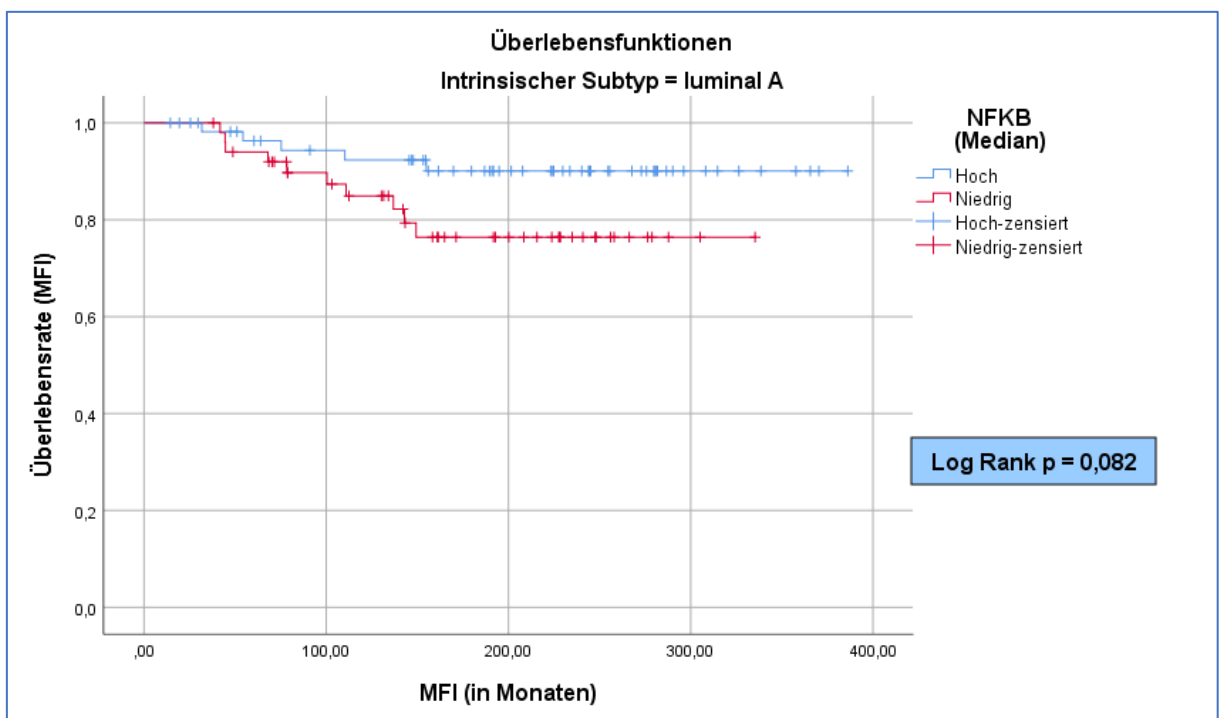


Abbildung 53: Kaplan-Meier-Analyse: NFκB in der Subgruppe „Luminal-A“ (metastasenfreies Überleben)

Bei Betrachtung des metastasenfremen Überlebens verfehlte der p -Wert das Signifikanzniveau (Abb. 53).

4.6 Berechnung der Überlebensfunktionen mittels Cox-Regression

Es wurde zunächst eine univariate Analyse der NF κ B-Expression sowie der untersuchten prognostischen Faktoren durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 9 gelistet.

Die errechneten p -Werte waren mit denen der Kaplan-Meier Log Rank-Tests identisch. Insofern wurde auch in Fällen, in denen sich die Kurven kreuzten und formal der Log-Rank-Test nicht verwertbar war, das Ergebnis durch die Cox-Regression bestätigt.

Tabelle 9: Univariate Cox-Regression von Prognosefaktoren und NF κ B sowie Subgruppen-Fallzahl

Merkmale Berechnung univariat	Subgruppen	Wald p-Wert Gesamt- überleben	Wald p-Wert metastasen- freies Intervall
histologischer Tumortyp	solid-duktal n = 136 lobulär n = 38 andere n = 26	$p = 0,039$	$p = 0,082$
Tumorstadium	pT1 n = 111 pT2 n = 84 pT3 n=5	$p = 0,009$	$p = 0,256$
Angioinvasion	nein n = 165, ja n = 35	$p = 0,001$	$p = 0,006$
Malignitätsgrad	G1 n=44 G2 n = 112 G3 n = 44	$p < 0,001$	$p < 0,001$
uPA	niedrig n = 66 hoch n = 52	$p = 0,787$	$p = 0,792$

PAI-1	Niedrig n = 84 hoch n = 34	$p = 0,812$	$p = 0,455$
Östrogenrezeptor	IRS 1-12 n = 163 IRS 0 n = 37	$p = 0,085$	$p = 0,046$
Progesteronrezeptor	IRS 1-12 n = 153, IRS 0 n = 47	$p = 0,034$	$p = 0,010$
Tumorproliferation	0-20 % n = 129 >20 % n = 64	$p < 0,001$	$p < 0,001$
HER2	niedrig (Score 0/+/FISH-) n = 169 hoch (FISH+/Score +++) n = 31	$p = 0,019$	$p = 0,027$
Intrinsischer Tumortyp	Luminal A n = 110, Luminal B n = 33, HER2+ n = 31, triple neg./bas. n = 26	$p < 0,001$	$p < 0,001$
NFκB-Expression	hoch n = 100, niedrig n = 100	$p = 0,234$	$p = 0,256$

Weiterhin wurden alle Untersuchungsparameter einer multivariaten Regressionsanalyse nach Cox unterzogen. Es zeigten sich als signifikante Prognosefaktoren im vorliegenden Kollektiv nur der Malignitätsgrad und die Tumorproliferation (Tab. 10).

Tabelle 10: Multivariate Cox-Regressionsanalyse NFKB und Prognosefaktoren

Merkmale (Berechnung multivariat)	Subgruppen	Wald p-Wert Gesamt- überleben	Wald p-Wert metastasen- freies Intervall
histologischer Tumortyp	solid-duktral n = 136 lobulär n = 38 andere n = 26	$p = 0,087$	$p = 0,075$
Tumorstadium	pT1 n = 111 pT2 n = 84 pT3 n = 5	$p = 0,083$	$p = 0,055$
Angioinvasion	nein n = 165 ja n = 35	$p = 0,592$	$p = 0,278$
Malignitätsgrad	G1 n = 44 G2 n = 112 G3 n = 44	$p = 0,015$	$p = 0,001$
uPA	niedrig n = 66 hoch n = 52	$p = 0,336$	$p = 0,169$
PAI-1	niedrig n = 84 hoch n = 34	$p = 0,365$	$p = 0,707$
Östrogenrezeptor	IRS 1-12 n = 163 IRS 0 n = 37	$p = 0,707$	$p = 0,196$
Progesteronrezeptor	IRS 1-12 n = 153 IRS 0 n = 47	$p = 0,501$	$p = 0,636$
Tumorproliferation	0-20 % n = 129 >20 % n = 64	$p = 0,040$	$p = 0,344$

HER2	niedrig n = 169 hoch n = 31	$p = 0,167$	$p = 0,409$
Intrinsischer Tumortyp	Luminal A n = 110 Luminal B n = 33, HER2+ n = 31 triple neg./bas. n=26	$p = 0,387$	$p = 0,857$
NFκB-Expression	hoch n = 100 niedrig n = 100	$p = 0,271$	$p = 0,390$

Zusätzlich wurde eine multivariate Cox-Regression lediglich derjenigen Prognosefaktoren berechnet, die sich univariat als signifikant erwiesen hatten (Tab. 11). Der Malignitätsgrad und die Tumorproliferation erwiesen sich sowohl im Gesamtüberleben als auch im metastasenfreien Intervall als signifikante Prognosefaktoren. Der histologische Tumortyp zeigte im Gesamtüberleben einen grenzwertigen p -Wert von 0,05, im metastasenfreien Überleben wurde das Signifikanzniveau jedoch verfehlt.

Tabelle 10: Multivariate Cox- Regression der Prognosefaktoren (nur univariat signifikante Faktoren)

Merkmale Berechnung multivariat (nur univariat signifikante Parameter eingeschlossen)	Subgruppen	Wald p- Wert Gesamt- überleben	Wald p- Wert metastasen- freies Intervall
histologischer Tumortyp	solid-duktal n = 136 lobulär n = 38 andere n = 26	$p = 0,050$	$p = 0,106$
Tumorstadium	pT1 n = 111 pT2 n = 84 pT3 n=5	$p = 0,254$	$p = 0,345$

Angioinvasion	nein n = 165 ja n = 35	$p = 0,070$	$p = 0,162$
Malignitätsgrad	G1 n=44 G2 n = 112 G3 n = 44	$p < 0,001$	$p < 0,001$
Östrogenrezeptor	IRS 1-12 n = 163 IRS 0 n = 37	$p = 0,353$	$p = 0,802$
Progesteronrezeptor	IRS 1-12 n = 153 IRS 0 n = 47	$p = 0,322$	$p = 0,660$
Tumorproliferation	0-20 % n = 129 >20 % n = 64	$p = 0,001$	$p = 0,015$
HER2	niedrig n = 169 hoch n = 31	$p = 0,576$	$p = 0,730$
Intrinsischer Tumortyp	Luminal A n = 110, Luminal B n = 33, HER2+ n = 31 triple neg./bas. n = 26	$p = 0,346$	$p = 0,640$

5 Diskussion

5.1 Kaplan-Meier-Analyse der histopathologischen Prognosefaktoren

Histologischer Tumortyp

Die Betrachtung der Überlebensfunktionen (Abb. 24, Abb. 25) zeigte übereinstimmend, dass solid-duktales Karzinome die schlechteste Prognose besitzen. Lobuläre Subtypen wiesen einen etwas günstigeren Krankheitsverlauf auf. Auffallend war jedoch die deutlich günstigere Überlebensrate der seltenen, unter „andere“ subsummierten Tumortypen.

Analysiert man diese 26 Fälle, findet man folgende Tumortypen:

tubulär n = 9, mucinös n = 4, papillär n = 1, medullär n = 4, DCIS mit früher Invasion n = 6, gemischt n = 2.

Dies sind im Wesentlichen prognostisch günstige Tumorvarianten, was den besseren Verlauf in dieser Gruppe erklärt. Somit entsprach das Ergebnis den Angaben in der Literatur (Fisher et al., 1990).

TNM-Stadium

Da im Untersuchungskollektiv alle Fälle nodal-negativ und nicht metastasiert waren, konnte nur das pT-Stadium verglichen werden. pT4-Karzinome waren im Untersuchungskollektiv nicht vorhanden und auch nur eine kleine Anzahl von pT3 Tumoren (Abb. 26). Es zeigte sich im Gesamtüberleben kein Unterschied zwischen den Stadien pT1 und pT2, alle fünf Patientinnen im Stadium pT3 verstarben jedoch am Tumor. Im metastasenfreien Intervall waren die pT3 Fälle ebenso ungünstig, hier zeigte sich jedoch auch eine kleine Abstufung zwischen pT1 und pT2 (Abb. 27). Aufgrund der kleinen Gruppe von pT3 Tumoren war eine statistische Signifikanz nicht zu erwarten. Das Resultat sollte zu den klinischen Überlegungen führen, ob fortgeschrittene Tumoren in jedem Fall einer systemischen therapeutischen Intervention bedürfen.

Angioinvasion

In der untersuchten Serie wurde vonseiten der histologischen Befundung nicht zwischen einer Lymphangiosis- oder Hämangiosis carcinomatosa unterschieden, sondern lediglich Angioinvasion „ja“ oder „nein“ klassifiziert. Dies ist auch der Tatsache geschuldet, dass im vorliegenden Kollektiv keine diesbezüglichen immunhistochemischen Spezialfärbungen, sondern lichtmikroskopische Aspekte bewertet wurden. Die Übersichtsarbeit von Gujam (Gujam et al., 2014) diskutierte diese Befundungs-

optionen (vergl. Kap.2.4). Der Einbruch in Lymphgefäße war in diesem Review prognoserelevant. Die Überlebenskurve im Studienkollektiv zeigte übereinstimmend eine signifikant schlechtere Prognose der Tumoren mit einer Angioinvasion (Abb. 28, Abb. 29). Daher schien es legitim, dieses Prognosekriterium in der vorliegenden Form für die weiteren Auswertungen zu verwenden.

Histologischer Malignitätsgrad

Das Grading ergab drei signifikant unterschiedliche Verlaufskurven für die drei Graduierungen für beide Überlebensfunktionen (Abb. 30, Abb. 31). Diese etablierte Tumorklassifikation konnte in einem systemischen Review an 162 000 Mammakarzinomen ihre Wertigkeit unter Beweis stellen (Schwartz et al., 2014). Die Resultate der vorliegenden Untersuchungsserie lagen hierzu übereinstimmend.

uPA- und PAI-1-Expression

Die Expression der Tumorproteasen uPA und PAI-1 wurde in den aktuellen Leitlinien nicht mehr empfohlen. Dies hat man vor allem damit begründet, dass in der damals zulassungsrelevanten Chemo-N0-Studie weder bei positiven Hormonrezeptoren eine endokrine Therapie noch bei HER2-Überexpression eine spezifische HER2-Antikörpertherapie eingesetzt wurde. Bei hohen Tumorproteasen wurde lediglich eine Chemotherapie appliziert. Somit entsprachen die Voraussetzungen und Ergebnisse der Studie nicht den Anforderungen der aktuellen Tumorthherapie (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 121). Im Untersuchungsmaterial waren nur in 118 Fällen die Expressionsdaten vorhanden, was möglicherweise zum negativen Status als Prognosefaktor beigetragen haben könnte (Abb. 32 bis Abb. 35).

Hormonrezeptorexpression

Der Nachweis der Östrogen- und Progesteronrezeptoren (Abb. 36 bis Abb. 39) zeigte im vorliegenden Untersuchungsgut etwas heterogene Resultate. Hier wies das Gesamtüberleben beim Östrogenrezeptor zwar deutlich separierte Verlaufskurven mit besserer Prognose der rezeptorpositiven Fälle, es errechnete sich kein signifikanter p -Wert. Für den Progesteronrezeptor (Gesamtüberleben) sowie für beide Berechnungen der Metastasenfreie Intervalle ergaben sich jedoch p -Werte kleiner als 0,05. Im Literaturvergleich gilt in Reviews die Rezeptorexpression als wichtiger prognostischer Faktor (Freedman et al., 2015). Möglicherweise spielt eine Rolle, dass im vorliegenden Patientenkollektiv keine endokrine Therapie appliziert wurde, die mit hoher Wahr-

scheinlichkeit die Überlebensrate bei den Rezeptorpositiven verbessert hätte. Da diese spezifische Therapie sehr gut verträglich ist, würde man sie heute auch in frühen Tumorstadien jeder Patientin empfehlen. Eine große Metaanalyse an über 11 000 Patientinnen konnte zeigen, dass durch eine adjuvante Tamoxifentherapie das Versterben innerhalb von 15 Jahren um ein Drittel reduziert wurde (Davies et al., 2011).

Tumorproliferation

Die Bestimmung der Tumorproliferation zeigte in der binären Gruppierung und einem Grenzwert von 20% einen signifikanten Unterschied in der Überlebenswahrscheinlichkeit. Dies galt in gleicher Weise für das Gesamtüberleben wie für das metastasenfremie Überleben (Abb. 40, Abb. 41). Aktuell gibt die Leitlinie den Grenzwert von $\geq 20\%$ vor, bei dem von einem erhöhten Risiko ausgegangen wird (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 120). Durch die Zusammenfassung zu zwei Gruppen stimmte diese Klassifikation mit der Leitlinie überein.

HER2-Expression

Die kombinierte Bestimmung einer HER2-Überexpression mittels Immunhistochemie und FISH-Analyse (in der Kategorie 2+) führte zu einer Kaplan-Meier-Berechnung mit signifikantem p -Wert (Abb. 42, Abb. 43). Dies steht im Einklang mit den Daten der Literatur, in der diese Untersuchung sowohl als prognostischer als auch als prädiktiver Faktor gilt (Slamon et al., 1987, Hudis, 2007). Im Review über 12 000 Patientinnen, die mit der Kombination aus Chemotherapie und Trastuzumab wegen eines frühen HER2-positiven Mammakarzinoms behandelt wurden, ließ sich errechnen, dass von 1000 Patientinnen durch die kombinierte Therapie 933 überlebten (Moja et al., 2012).

Intrinsische Subtypen

Die intrinsischen Subtypen ergaben sich in der vorliegenden Form nicht aus molekulargenetischen Bestimmungen, sondern aus der Kombination der Merkmale Hormonrezeptorexpression, Proliferationsrate und HER2-Expression. Strenggenommen müsste die Nomenklatur dementsprechend nicht Luminal A sondern Luminal A-like lauten. In der klinischen Routine werden die intrinsischen Subtypen jedoch in der gleichen Weise genutzt.

Die Betrachtung der Überlebenskurve ergab einen signifikanten p -Wert, jedoch unterschieden sich nur die Luminal A-Tumoren von den übrigen Tumoren (Abb. 44, Abb.

45). Dies ist übereinstimmend mit einer molekulargenetische Analyse von 78 Brustkrebsfällen mittels 85 cDNA microarray-Technik (Sørlie et al., 2001). Diese zeigte in verschiedenen Gruppierungen in der Kaplan-Meier-Analyse ebenfalls nur eine bessere Überlebensrate bei den Luminal A-Tumoren.

In den Leitlinienempfehlungen werden die intrinsischen Subtypen im Wesentlichen nicht als Prognosefaktoren, sondern als Entscheidungshilfen über die adjuvante oder neoadjuvante Therapie empfohlen (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 123).

Große Studien, wie der BCIRG 001 Trial konnten zeigen, dass Luminal A-Tumoren sehr gut auf eine endokrine Therapie ansprachen und Luminal B-Tumoren von einer zusätzlichen Chemotherapie profitierten. Die weiteren Subtypen zeigten bessere Krankheitsverläufe durch eine Chemotherapie, der Erfolg bei den HER2-positiven Karzinomen ließ sich durch eine zusätzlichen Antikörpertherapie steigern (Hugh et al., 2009).

In neueren Therapieempfehlungen wurden zusätzlich Multigentests in die Therapieentscheidungen einbezogen (Goldhirsch et al., 2013) (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft; Deutsche Krebshilfe; AWMF) 2020)(S. 124). Diese lagen für das Untersuchungskollektiv nicht vor.

5.2 Korrelation zwischen NFκB und Prognosefaktoren (Chi-Quadrat-Tests)

Der Vergleich zwischen der NFκB-Expression und den histologischen Prognosefaktoren lässt sich in drei Gruppen zusammenfassen:

1. Keine Korrelation zeigte sich zum histologischen Tumortyp (Abb. 11), dem Tumorstadium (Abb. 12), den Tumorproteasen uPA (Abb. 15) und PAI-1 (Abb. 16) und den Hormonrezeptoren für Östrogene (Abb. 17) und Progesteron (Abb. 18).
2. Für die Angioinvasion (Abb. 13), den Malignitätsgrad (Abb. 14), die Wachstumsfraktion (Abb. 19) und die HER2-Expression (Abb. 20) ergab sich kein signifikanter *p*-Wert. Es war jedoch auffallend, dass jeweils der günstigere Prognosefaktor einen etwas höheren Anteil an hoher NFκB-Expression aufwies: Für die Angioinvasion „ja“ gab es weniger Fälle bei hohem NFκB; beim Malignitätsgrad überwog der Grad 1 bei hoher und der Grad 3 bei niedriger Expression. Bei hohem NFκB waren es mehr Fälle mit niedriger Tumorproliferation und mehr Fälle von niedrigem HER2.

3. Die intrinsischen Subtypen (Abb. 21) zeigten in dieser Korrelation einen signifikanten p -Wert, wobei insbesondere der Luminal A-Anteil bei hoher NF κ B-Expression überwog.

Eine Analyse von 112 Mammakarzinomen, bei denen auch NF κ B mittels einer immunhistochemischen Methode bestimmt wurde, zeigte eine positive Korrelation von hoher NF κ B-Expression mit günstigem Rezeptorstatus, jedoch auch mit dem Malignitätsgrad (in zwei Gruppen), dem TNM-Stadium sowie einem Lymphknotenbefall. Allerdings handelte es sich um ein Kollektiv, bei dem 31% der Tumoren fortgeschritten waren (größer als 5cm) und 54% Lymphknotenmetastasen aufwiesen. Auch war die Verteilung deutlich unterschiedlich zur vorliegenden Studie, da 84% der Fälle in die Gruppe mit positivem NF κ B fielen. Über die operative und systemische Therapie machte die Studie keine Angaben, ebenfalls wurden keine Krankheitsverläufe analysiert (Zhou et al., 2014).

Eine andere Arbeitsgruppe bearbeitete 119 invasive Mammakarzinome sowie ein Vergleichskollektiv von 25 benignen Mammagewebeproben und führte immunhistochemische Analysen von NF κ B durch (Agrawal et al., 2018). Die Ergebnisse wurden mit den konventionellen Prognosefaktoren der Karzinome verglichen. Die Expression von NF κ B wurde in der Prozentzahl positiver Tumorzellen gemessen und lag median bei 90%. Neben den klassischen Prognosefaktoren Tumortyp, Malignitätsgrad und Hormonrezeptorstatus wurden auch weitere klinische Parameter wie Alter, Menopausenstatus, Körperseite der betroffenen Brust, Lokalisation in der betroffenen Brust sowie die Zahl der entfernten und befallenen Lymphknoten in die statistische Analyse einbezogen. Krankheitsverläufe oder Therapieverfahren beschrieb die Studie nicht. Es fand sich keine statistische Differenz zwischen NF κ B-Expression und Alter, Menopausenstatus, Lymphknotenstatus, Tumorgöße und -Lokalisation, Malignitätsgrad, Tumortyp und Hormonrezeptoren. Allein eine signifikante Erhöhung von NF κ B im Vergleich zum gesunden Mammagewebe ließ sich nachweisen.

Auf molekulargenetischer Ebene gibt es mehrere Untersuchungen, dass der NF κ B-Pathway den endokrinen Stoffwechsel beeinflussen und die Resistenz gegenüber einer endokrinen Therapie steigern kann (Khongthong et al., 2019, Gomes et al., 2020), bzw. Brustkrebszellen vor einer Apoptose schützen kann (Frasor et al., 2009). Diese Resultate betreffen jedoch nicht den Vergleich zwischen der NF κ B-Expression und der Rezeptorexpression im Sinn von prognoserelevanten Faktoren.

Eine neuere Publikation untersuchte Varianten und Mutationen des *NFκB*-Gens (Ghali et al., 2019). Sie konnte herausfinden, dass Variationen dieses Gens zu NFκB1-Varianten führten, die ganz unterschiedlich und teilweise konträr mit den histopathologischen Prognosefaktoren korrelierten.

5.3 Wertigkeit von NFκB als Prognosefaktor (Kaplan-Meier-Analyse)

Die Auswertung des Gesamtüberlebens in der beschriebenen Aufteilung von zwei Gruppen (mit Grenze des Medians) zeigte von den Kurvenverläufen eine günstigere Überlebenswahrscheinlichkeit der Fälle mit hoher Expression (Abb. 22). Allerdings ließ sich kein signifikanter p -Wert errechnen. Die Betrachtung des metastasenfren Überlebens zeigte ebenfalls keine unterschiedlichen Verläufe (Abb. 23). Demnach ist die NFκB-Expression in der vorliegenden Analytik nicht als klinischer Prognosefaktor zu verwenden.

5.4 Kaplan-Meier Analyse der Prognosefaktoren in den NFκB-Subgruppen

Die Subgruppenanalyse wies in den allermeisten Fällen keine signifikanten p -Werte auf. Grenzwertige statistische Zusammenhänge gab es in der Subgruppen „PAI-1 niedrig“ (Abb. 46, Abb. 47), „Östrogenrezeptor positiv“ (Abb. 48, Abb. 49) und „Progesteronrezeptor positiv“ (Abb. 50, Abb. 51). Es fiel auf, dass alle drei Subgruppen solche sind, die für eine günstige Prognose stehen.

Dies trifft ebenfalls für die einzige Untersuchung mit signifikantem p -Wert in der Gruppe „Luminal A“ zu, wobei jedoch hier der p -Wert im Gesamtüberleben mit $p = 0,041$ lediglich knapp im signifikanten Bereich war (Abb. 52), während er im metastasenfren Intervall mit $p = 0,082$ wieder über der Grenze lag (Abb. 53).

5.5 Cox-Regressionen

Um die Bedeutung als Prognosefaktoren zu komplettieren, wurde für alle untersuchten Parameter eine Berechnung der Überlebensfunktionen mit einer Cox-Regressionsanalyse durchgeführt. Diese gibt detailliertere Auskunft, inwieweit einzelne Faktoren voneinander abhängig oder unabhängig sind.

Diese erfolgte zunächst als univariate Berechnung, wobei sich übereinstimmende p -Werte wie bei den Kaplan-Meier-Analysen ergaben (Tab. 9).

Die multivariate Cox-Regressionsanalyse aller untersuchter Parameter (Tab. 10) zeigte, dass lediglich der Malignitätsgrad und die Tumorphroliferation unabhängige Prognose-

sefaktoren im Untersuchungskollektiv darstellten. Insbesondere die NFκB-Expression wies in dieser Untersuchung keine prognostische Wertigkeit auf.

Die Berechnung der Cox-Regression lediglich der Parameter, die sich univariat als signifikant zeigen, bestätigte diese beiden Bestimmungen als diejenigen mit den niedrigsten p -Werten (Tab. 11). Es zeigte sich jedoch auch der histologische Tumortyp als ein grenzwertig signifikanter Prognosefaktor.

Diese Ergebnisse sind jedoch, wie bereits diskutiert, spezifisch für das unbehandelte Patientenkollektiv und mit einer nach den aktuellen Empfehlungen therapierten Patientengruppe nicht vergleichbar.

5.6 NFκB als Prognosefaktor

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, dass die Bestimmung von NFκB in der Genexpressionsanalyse zwar eine Verbindung von hoher Expression mit günstigen typischen Prognosefaktoren aufweist, jedoch per se keinen eigenständigen Prognosefaktor darstellt. Ursächlich könnte dem zugrunde liegen, dass NFκB in so viele Stoffwechselprozesse eingebunden ist, dass die Aggressivität einer Tumorzellpopulation davon nicht entscheidend beeinflusst wird.

Interessante neuere Untersuchungen ergaben, dass Mutationen im *NFκB*-Gen zu Proteinvarianten führten, die ganz unterschiedliche Eigenschaften aufwiesen (Ghali et al., 2019). Auf diesem Gebiet könnten weitere Studien relevante Ergebnisse erwarten lassen. Es bleibt unklar, ob eine erhöhte Genaktivität auch ein erhöhtes Protein-Level impliziert und ob die Genexpression überhaupt etwas über die molekulare Funktion aussagt. Die Genexpression könnte auch ein Hinweis auf eine Aktivierung von regulatorischen Prozessen sein, welche für unterschiedliche Stoffwechselwege hemmend oder aktivierend wirken könnten.

5.7 Stärken- / Schwächenanalyse der Untersuchung

Schwächen der vorliegenden Studie sind zum einen die für ein retrospektives Mamma-karzinomkollektiv eingeschränkte Fallzahl von $n = 200$. Auch wurde der Cut-Off-Wert in Ermangelung eines etablierten Grenzwertes etwas willkürlich mit dem Median gewählt. Letztendlich liefert die molekulargenetische Untersuchung zwar ein exaktes numerisches Ergebnis, eine Immunhistochemie jedoch die morphologische Korrelation, dass tatsächlich die Tumorzellen NFκB exprimieren.

Stärken der Analyse sind sicher die sehr lange Nachbeobachtungszeit und hohe Follow-Up-Rate, so dass auch der „wichtigste“ Indikator Gesamtüberleben genutzt werden konnte, sowie ein medikamentös unbehandeltes Kollektiv, wodurch Überlagerungen mit möglichen prädiktiven Effekten ausgeschlossen werden konnten.

6 Zusammenfassung

NFκB ist ein spezifischer Transkriptionsfaktor, der in allen menschlichen Zellen nachzuweisen ist. Er ist an zahlreichen Stoffwechselprozessen beteiligt, wie der Regulation der Zellproliferation, der Immunantwort und des Zelltodes, wird aber auch mit zahlreichen Erkrankungen in Zusammenhang gebracht.

Bei vielen Krebserkrankungen wird ebenfalls eine Aktivierung von NFκB beobachtet, insbesondere im Zusammenhang mit der tumorinduzierten Immunmodulation. Entsprechend seiner Schlüsselrolle für zahlreiche zelluläre Prozesse gibt es sehr umfangreiche Daten über die molekularen Analysen des NFκB-Pathways, die in vielen Fällen jedoch nur bestimmte Teilaspekte von Stoffwechselprozessen betreffen.

Daneben gibt es in der Onkologie einige Publikationen, die Analysen zu prognostisch ungünstigen Mammakarzinomen, wie z.B. basaloiden oder triple-negativen Subtypen oder dem Metastasierungspotential beschreiben. Bisher finden sich jedoch keine Arbeiten, die eine Expression von NFκB an einem prognostisch günstigen, nodal-negativen und systemisch unbehandelten Kollektiv untersucht und dies mit einem kompletten Panel an etablierten Prognosefaktoren verglichen haben. Dies sollte mit der Problemstellung der geplanten Dissertation etabliert werden.

Nach einer Aktualisierung der Datenbank und neuen Erhebungen der Überlebensdaten sowie des metastasenfrenen Intervalls lag ein Untersuchungskollektiv von 200 Fällen mit sehr langen Nachbeobachtungszeiten vor. In diesem konnte eine Korrelation zwischen dem NFκB-Status und den etablierten prognostischen und prädiktiven Faktoren sowie zu den Krankheitsverläufen hergestellt werden.

Die Überlebenswahrscheinlichkeiten mittels Kaplan-Meier-Analyse zeigte für die histopathologischen Prognosefaktoren signifikante Unterschiede für den histologischen Tumortyp, das Tumorstadium, eine Angioinvasion, den Malignitätsgrad, den Progesteronrezeptor, die Wachstumsfraktion, die HER2-Expression sowie den intrinsischen Subtyp. Grenzwertig an der Signifikanzgrenze zeigten sich die Resultate für den Östrogenrezeptor. Keine Unterschiede ergaben sich für die Tumorproteasen uPA und

PAI-1, die jedoch nur an 118 Fällen bestimmt worden waren. Diese Ergebnisse entsprachen den Erwartungen aus der Literatur. Es fiel jedoch auf, dass die Überlebenswahrscheinlichkeiten für eine Hormonrezeptorexpression und eine HER2-Überexpression nicht so deutlich ausfielen, wie es nach Literaturangaben zu erwarten war. Möglicherweise spielte hier eine Rolle, dass es sich um Patientinnen handelte, die keine adjuvante endokrine oder HER2-spezifische Therapie erhalten hatten.

Der Vergleich zwischen der NFκB-Expression und den histologischen Prognosefaktoren mittels Chi-Quadrat-Test ließ zu den meisten Faktoren keine statistisch signifikante Beziehung erkennen. Lediglich die intrinsischen Subtypen zeigten in dieser Korrelation einen signifikanten p -Wert, wobei der Luminal A-Anteil bei hoher NFκB-Expression überwog. Für die Angioinvasion, den Malignitätsgrad, die Wachstumsfraktion und die HER2-Expression ergab sich kein signifikanter p -Wert. Es ließ sich jedoch konstatieren, dass jeweils der günstigere Prognosefaktor einen etwas höheren Anteil an hoher NFκB-Expression aufwies. Dieser Vergleich wurde in der Literatur nur in zwei Arbeiten betrachtet, die zu heterogenen Ergebnissen kamen.

Die Auswertung des Gesamtüberlebens (Kaplan-Meier-Analyse) der zwei NFκB-Gruppen zeigte von den Kurvenverläufen eine günstigere Überlebenswahrscheinlichkeit der Fälle mit hoher Expression ohne signifikanten p -Wert. Die Betrachtung des rezidivfreien Überlebens erbrachte keine unterschiedlichen Verläufe.

Eine Kaplan-Meier-Analyse der konventionellen Prognosefaktoren in den NFκB-Subgruppen wies in den meisten Fällen keine signifikanten p -Werte auf. Als einzige Untersuchung mit signifikantem p -Wert war in der Gruppe Luminal A ein Unterschied zu sehen, jedoch auch hier mit grenzwertigem p -Wert mit 0,041.

Univariate Cox-Regressionsmodelle des Gesamtüberlebens ergaben identische statistische Beziehungen wie die Kaplan-Meier-Berechnungen. Die multivariate Cox-Regressionsanalyse aller untersuchter Parameter zeigte, dass lediglich der Malignitätsgrad und die Tumorpherifikation unabhängige Prognosefaktoren im Untersuchungskollektiv darstellten. Insbesondere die NFκB-Expression zeigte in dieser Untersuchung

keine prognostische Wertigkeit. Die Berechnung der Cox-Regression lediglich der Parameter, die sich univariat als signifikant zeigten, bestätigte diese beiden Bestimmungen als diejenigen mit den niedrigsten p-Werten. Es zeigten sich jedoch auch der histologische Tumortyp als grenzwertig signifikanter Prognosefaktor.

Zusammenfassend erbrachten die Analysen, dass für eine hohe NFκB-Expression ein Trend zu einer Verbindung mit günstigen Prognosefaktoren vorlag. Auch wiesen solche Patientinnen klinisch etwas bessere Krankheitsverläufe auf. In der Bewertung als klinischer Prognosefaktor ist die NFκB-Analyse in der vorliegenden Form kein prognoserelevanter Untersuchungsfaktor.

7 Literaturverzeichnis

- ABDIN, S. M., TOLBA, M. F., ZAHER, D. M. & OMAR, H. A. 2021. Nuclear factor- κ B signaling inhibitors revert multidrug-resistance in breast cancer cells. *Chem Biol Interact*, 340, 109450.
- AGGARWAL, B. B., SHISHODIA, S., TAKADA, Y., BANERJEE, S., NEWMAN, R. A., BUESO-RAMOS, C. E. & PRICE, J. E. 2005. Curcumin suppresses the paclitaxel-induced nuclear factor- κ B pathway in breast cancer cells and inhibits lung metastasis of human breast cancer in nude mice. *Clin Cancer Res*, 11, 7490-8.
- AGRAWAL, A. K., PIELKA, E., LIPINSKI, A., JELEN, M., KIELAN, W. & AGRAWAL, S. 2018. Clinical validation of nuclear factor kappa B expression in invasive breast cancer. *Tumour Biol*, 40, 1010428317750929.
- ALMSTEDT, K., MENDOZA, S., OTTO, M., BATTISTA, M. J., STEETSKAMP, J., HEIMES, A. S., KRAJNAK, S., POPLAWSKI, A., GERHOLD-AY, A., HASENBURG, A., DENKERT, C. & SCHMIDT, M. 2020. EndoPredict(®) in early hormone receptor-positive, HER2-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 182, 137-146.
- BALDWIN, A. S. 2001. Control of oncogenesis and cancer therapy resistance by the transcription factor NF- κ B. *J Clin Invest*, 107, 241-6.
- BASELGA, J., CAMPONE, M., PICCART, M., BURRIS, H. A., 3RD, RUGO, H. S., SAHMOUD, T., NOGUCHI, S., GNANT, M., PRITCHARD, K. I., LEBRUN, F., BECK, J. T., ITO, Y., YARDLEY, D., DELEU, I., PEREZ, A., BACHELOT, T., VITTORI, L., XU, Z., MUKHOPADHYAY, P., LEBWOHL, D. & HORTOBAGYI, G. N. 2012. Everolimus in postmenopausal hormone-receptor-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med*, 366, 520-9.
- BAUD, V. & KARIN, M. 2009. Is NF- κ B a good target for cancer therapy? Hopes and pitfalls. *Nat Rev Drug Discov*, 8, 33-40.
- BENTZEN, S. M., AGRAWAL, R. K., AIRD, E. G., BARRETT, J. M., BARRETT-LEE, P. J., BLISS, J. M., BROWN, J., DEWAR, J. A., DOBBS, H. J., HAVILAND, J. S., HOSKIN, P. J., HOPWOOD, P., LAWTON, P. A., MAGEE, B. J., MILLS, J., MORGAN, D. A., OWEN, J. R., SIMMONS, S., SUMO, G., SYDENHAM, M. A., VENABLES, K. & YARNOLD, J. R. 2008. The UK Standardisation of Breast Radiotherapy (START) Trial A of radiotherapy hypofractionation for treatment of early breast cancer: a randomised trial. *Lancet Oncol*, 9, 331-41.
- BISWAS, S. K., GANGI, L., PAUL, S., SCHIOPPA, T., SACCANI, A., SIRONI, M., BOTTAZZI, B., DONI, A., VINCENZO, B., PASQUALINI, F., VAGO, L., NEBULONI, M., MANTOVANI, A. & SICA, A. 2006. A distinct and unique transcriptional program expressed by tumor-associated macrophages (defective NF- κ B and enhanced IRF-3/STAT1 activation). *Blood*, 107, 2112-22.
- BLOOM, H. J. & RICHARDSON, W. W. 1957. Histological grading and prognosis in breast cancer; a study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer*, 11, 359-77.
- BRANTLEY, D. M., CHEN, C. L., MURAOKA, R. S., BUSHDID, P. B., BRADBERRY, J. L., KITTRELL, F., MEDINA, D., MATRISIAN, L. M., KERR, L. D. & YULL, F. E. 2001. Nuclear factor- κ B (NF- κ B) regulates proliferation and branching in mouse mammary epithelium. *Mol Biol Cell*, 12, 1445-55.
- BRAY, F., FERLAY, J., SOERJOMATARAM, I., SIEGEL, R. L., TORRE, L. A. & JEMAL, A. 2018. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 68, 394-424.

- BRENNAN, M. E. & HOUSSAMI, N. 2012. Evaluation of the evidence on staging imaging for detection of asymptomatic distant metastases in newly diagnosed breast cancer. *Breast*, 21, 112-23.
- BRUCE, J., CARTER, D. C. & FRASER, J. 1970. Patterns of recurrent disease in breast cancer. *Lancet*, 1, 433-5.
- BUCHHOLZ, T. A., GARG, A. K., CHAKRAVARTI, N., AGGARWAL, B. B., ESTEVA, F. J., KUERER, H. M., SINGLETARY, S. E., HORTOBAGYI, G. N., PUSZTAI, L., CRISTOFANILLI, M. & SAHIN, A. A. 2005. The nuclear transcription factor kappaB/bcl-2 pathway correlates with pathologic complete response to doxorubicin-based neoadjuvant chemotherapy in human breast cancer. *Clin Cancer Res*, 11, 8398-402.
- BUNDRED, N. J. 2001. Prognostic and predictive factors in breast cancer. *Cancer Treat Rev*, 27, 137-42.
- CAMERON, D., PICCART-GEHART, M. J., GELBER, R. D., PROCTER, M., GOLDHIRSCH, A., DE AZAMBUJA, E., CASTRO, G., JR., UNTCH, M., SMITH, I., GIANNI, L., BASELGA, J., AL-SAKAFF, N., LAUER, S., MCFADDEN, E., LEYLAND-JONES, B., BELL, R., DOWSETT, M. & JACKISCH, C. 2017. 11 years' follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive early breast cancer: final analysis of the HERceptin Adjuvant (HERA) trial. *Lancet*, 389, 1195-1205.
- CAO, Y., LUO, J. L. & KARIN, M. 2007. I kappa B kinase alpha kinase activity is required for self-renewal of ErbB2/Her2-transformed mammary tumor-initiating cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104, 15852-7.
- CATTORETTI, G., BECKER, M. H., KEY, G., DUCHROW, M., SCHLÜTER, C., GALLE, J. & GERDES, J. 1992. Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB 1 and MIB 3) detect proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections. *J Pathol*, 168, 357-63.
- CHEANG, M. C., CHIA, S. K., VODUC, D., GAO, D., LEUNG, S., SNIDER, J., WATSON, M., DAVIES, S., BERNARD, P. S., PARKER, J. S., PEROU, C. M., ELLIS, M. J. & NIELSEN, T. O. 2009. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst*, 101, 736-50.
- CHLEBOWSKI, R. T., HENDRIX, S. L., LANGER, R. D., STEFANICK, M. L., GASS, M., LANE, D., RODABOUGH, R. J., GILLIGAN, M. A., CYR, M. G., THOMSON, C. A., KHANDEKAR, J., PETROVITCH, H. & MCTIERNAN, A. 2003. Influence of estrogen plus progestin on breast cancer and mammography in healthy postmenopausal women: the Women's Health Initiative Randomized Trial. *Jama*, 289, 3243-53.
- COLLABORATIVE GROUP ON HORMONAL FACTORS IN BREAST CANCER 2002. Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease. *Lancet*, 360, 187-95.
- COYLE, Y. M. 2004. The effect of environment on breast cancer risk. *Breast Cancer Res Treat*, 84, 273-88.
- DARBY, S., MCGALE, P., CORREA, C., TAYLOR, C., ARRIAGADA, R., CLARKE, M., CUTTER, D., DAVIES, C., EWERTZ, M., GODWIN, J., GRAY, R., PIERCE, L., WHELAN, T., WANG, Y. & PETO, R. 2011. Effect of radiotherapy after breast-conserving surgery on 10-year recurrence and 15-year breast cancer death: meta-analysis of individual patient data for 10,801 women in 17 randomised trials. *Lancet*, 378, 1707-16.
- DAVIES, C., GODWIN, J., GRAY, R., CLARKE, M., CUTTER, D., DARBY, S., MCGALE, P., PAN, H. C., TAYLOR, C., WANG, Y. C., DOWSETT, M., INGLE,

- J. & PETO, R. 2011. Relevance of breast cancer hormone receptors and other factors to the efficacy of adjuvant tamoxifen: patient-level meta-analysis of randomised trials. *Lancet*, 378, 771-84.
- DE LA ROCHEFORDIERE, A., ASSELAINE, B., CAMPANA, F., SCHOLL, S. M., FENTON, J., VILCOQ, J. R., DURAND, J. C., POUILLART, P., MAGDELENAT, H. & FOURQUET, A. 1993. Age as prognostic factor in premenopausal breast carcinoma. *Lancet*, 341, 1039-43.
- DEPARTMENT OF HEALTH GUIDELINE DEVELOPMENT GROUP. 2015. *Diagnosis, staging and treatment of patients with breast cancer. National Clinical guideline No.7 Summary, June 2015* [Online]. Available: <https://www.hse.ie/eng/services/list/5/cancer/profinfo/guidelines/breast/summary-guideline-breast-cancer.pdf> [Accessed 30.09.2020].
- DESANTIS, C. E., MA, J., GAUDET, M. M., NEWMAN, L. A., MILLER, K. D., GODING SAUER, A., JEMAL, A. & SIEGEL, R. L. 2019. Breast cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin*, 69, 438-451.
- DU PREL, J. B., RÖHRIG, B., HOMMEL, G. & BLETTNER, M. 2010. Choosing statistical tests: part 12 of a series on evaluation of scientific publications. *Dtsch Arztebl Int*, 107, 343-8.
- EISEN, A., FLETCHER, G. G., GANDHI, S., MATES, M., FREEDMAN, O. C., DENT, S. F. & TRUDEAU, M. E. 2015. Optimal systemic therapy for early breast cancer in women: a clinical practice guideline. *Curr Oncol*, 22, S67-81.
- ELSTON, C. W. & ELLIS, I. O. 2002. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. C. W. Elston & I. O. Ellis. *Histopathology* 1991; 19; 403-410. *Histopathology*, 41, 151-2, discussion 152-3.
- EWERTZ, M., JENSEN, M. B., GUNNARSDÓTTIR, K., HØJRIS, I., JAKOBSEN, E. H., NIELSEN, D., STENBYGAARD, L. E., TANGE, U. B. & COLD, S. 2011. Effect of obesity on prognosis after early-stage breast cancer. *J Clin Oncol*, 29, 25-31.
- FASCHING, P. A., EKICI, A. B., ADAMIETZ, B. R., WACHTER, D. L., HEIN, A., BAYER, C. M., HÄBERLE, L., LOEHLBERG, C. R., JUD, S. M., HEUSINGER, K., RÜBNER, M., RAUH, C., BANI, M. R., LUX, M. P., SCHULZ-WENDTLAND, R., HARTMANN, A. & BECKMANN, M. W. 2011. Breast Cancer Risk - Genes, Environment and Clinics. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 71, 1056-1066.
- FINN, R. S., MARTIN, M., RUGO, H. S., JONES, S., IM, S. A., GELMON, K., HARBECK, N., LIPATOV, O. N., WALSH, J. M., MOULDER, S., GAUTHIER, E., LU, D. R., RANDOLPH, S., DIÉRAS, V. & SLAMON, D. J. 2016. Palbociclib and Letrozole in Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med*, 375, 1925-1936.
- FISHER, B., ANDERSON, S., BRYANT, J., MARGOLESE, R. G., DEUTSCH, M., FISHER, E. R., JEONG, J. H. & WOLMARK, N. 2002. Twenty-year follow-up of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer. *N Engl J Med*, 347, 1233-41.
- FISHER, E. R., REDMOND, C., FISHER, B. & BASS, G. 1990. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Projects (NSABP). Prognostic discriminants for 8-year survival for node-negative invasive breast cancer patients. *Cancer*, 65, 2121-8.
- FITZAL, F., FILIPITS, M., RUDAS, M., GREIL, R., DIETZE, O., SAMONIGG, H., LAX, S., HERZ, W., DUBSKY, P., BARTSCH, R., KRONENWETT, R. & GNANT, M. 2015. The genomic expression test EndoPredict is a prognostic

- tool for identifying risk of local recurrence in postmenopausal endocrine receptor-positive, her2neu-negative breast cancer patients randomised within the prospective ABCSG 8 trial. *Br J Cancer*, 112, 1405-10.
- FORNARI, F. A., RANDOLPH, J. K., YALOWICH, J. C., RITKE, M. K. & GEWIRTZ, D. A. 1994. Interference by doxorubicin with DNA unwinding in MCF-7 breast tumor cells. *Mol Pharmacol*, 45, 649-56.
- FRASOR, J., WEAVER, A., PRADHAN, M., DAI, Y., MILLER, L. D., LIN, C. Y. & STANCULESCU, A. 2009. Positive cross-talk between estrogen receptor and NF-kappaB in breast cancer. *Cancer Res*, 69, 8918-25.
- FREEDMAN, O. C., FLETCHER, G. G., GANDHI, S., MATES, M., DENT, S. F., TRUDEAU, M. E. & EISEN, A. 2015. Adjuvant endocrine therapy for early breast cancer: a systematic review of the evidence for the 2014 Cancer Care Ontario systemic therapy guideline. *Curr Oncol*, 22, S95-s113.
- FÜGEMANN, H. & KÄÄB-SANYAL, V. 2016. Mammographie-Screening: Nutzen-Schaden-Abwägung im internationalen Vergleich. *Dtsch Arztebl*, 113, 74-78.
- GARKAVTSEV, I., KOZIN, S. V., CHERNOVA, O., XU, L., WINKLER, F., BROWN, E., BARNETT, G. H. & JAIN, R. K. 2004. The candidate tumour suppressor protein ING4 regulates brain tumour growth and angiogenesis. *Nature*, 428, 328-32.
- GEMEINSAMER BUNDESAUSSCHUSS (G-BA). 2020. *Versorgungsrichtlinie Biomarkertests* [Online]. Available: <https://www.g-ba.de/richtlinien/7> [Accessed 29.12.2020].
- GERBER, B., SEITZ, E., MÜLLER, H., KRAUSE, A., REIMER, T., KUNDT, G. & FRIESE, K. 2003. Perioperative screening for metastatic disease is not indicated in patients with primary breast cancer and no clinical signs of tumor spread. *Breast Cancer Res Treat*, 82, 29-37.
- GERDES, J., SCHWAB, U., LEMKE, H. & STEIN, H. 1983. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer*, 31, 13-20.
- GHALI, R. M., MAHJOUR, S., ZAIED, S., BHIRI, H., BAHIA, W., MAHJOUR, T. & ALMAWI, W. Y. 2019. Association of Genetic Variants in NF-kB with Susceptibility to Breast Cancer: a Case Control Study. *Pathol Oncol Res*, 25, 1395-1400.
- GHOSH, S., MAY, M. J. & KOPP, E. B. 1998. NF-kappa B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol*, 16, 225-60.
- GLUZ, O., NITZ, U. A., CHRISTGEN, M., KATES, R. E., SHAK, S., CLEMENS, M., KRAEMER, S., AKTAS, B., KUEMMEL, S., REIMER, T., KUSCHE, M., HEYL, V., LORENZ-SALEHI, F., JUST, M., HOFMANN, D., DEGENHARDT, T., LIEDTKE, C., SVEDMAN, C., WUERSTLEIN, R., KREIPE, H. H. & HARBECK, N. 2016. West German Study Group Phase III PlanB Trial: First Prospective Outcome Data for the 21-Gene Recurrence Score Assay and Concordance of Prognostic Markers by Central and Local Pathology Assessment. *J Clin Oncol*, 34, 2341-9.
- GOLDHIRSCH, A., WINER, E. P., COATES, A. S., GELBER, R. D., PICCART-GEBHART, M., THÜRLIMANN, B. & SENN, H. J. 2013. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol*, 24, 2206-23.
- GOMES, I., DE ALMEIDA, B. P., DÂMASO, S., MANSINHO, A., CORREIA, I., HENRIQUES, S., CRUZ-DUARTE, R., VILHAIS, G., FÉLIX, P., ALVES, P., CORREDEIRA, P., BARBOSA-MORAIS, N. L., COSTA, L. & CASIMIRO, S.

2020. Expression of receptor activator of NF κ B (RANK) drives stemness and resistance to therapy in ER+HER2- breast cancer. *Oncotarget*, 11, 1714-1728.
- GRETEN, F. R., ECKMANN, L., GRETEN, T. F., PARK, J. M., LI, Z. W., EGAN, L. J., KAGNOFF, M. F. & KARIN, M. 2004. IKK β links inflammation and tumorigenesis in a mouse model of colitis-associated cancer. *Cell*, 118, 285-96.
- GUJAM, F. J., GOING, J. J., EDWARDS, J., MOHAMMED, Z. M. & MCMILLAN, D. C. 2014. The role of lymphatic and blood vessel invasion in predicting survival and methods of detection in patients with primary operable breast cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*, 89, 231-41.
- GUO, G., WANG, T., GAO, Q., TAMAE, D., WONG, P., CHEN, T., CHEN, W. C., SHIVELY, J. E., WONG, J. Y. & LI, J. J. 2004. Expression of ErbB2 enhances radiation-induced NF- κ B activation. *Oncogene*, 23, 535-45.
- HALL, J. M., LEE, M. K., NEWMAN, B., MORROW, J. E., ANDERSON, L. A., HUEY, B. & KING, M. C. 1990. Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science*, 250, 1684-9.
- HAMMOND, M. E., HAYES, D. F., DOWSETT, M., ALLRED, D. C., HAGERTY, K. L., BADVE, S., FITZGIBBONS, P. L., FRANCIS, G., GOLDSTEIN, N. S., HAYES, M., HICKS, D. G., LESTER, S., LOVE, R., MANGU, P. B., MCSHANE, L., MILLER, K., OSBORNE, C. K., PAIK, S., PERLMUTTER, J., RHODES, A., SASANO, H., SCHWARTZ, J. N., SWEEP, F. C., TAUBE, S., TORLAKOVIC, E. E., VALENSTEIN, P., VIALE, G., VISSCHER, D., WHEELER, T., WILLIAMS, R. B., WITTLIFF, J. L. & WOLFF, A. C. 2010. American Society of Clinical Oncology/College Of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol*, 28, 2784-95.
- HARBECK, N. & GNANT, M. 2017. Breast cancer. *Lancet*, 389, 1134-1150.
- HARBECK, N., SCHMITT, M., MEISNER, C., FRIEDEL, C., UNTCH, M., SCHMIDT, M., SWEEP, C. G., LISBOA, B. W., LUX, M. P., BECK, T., HASMÜLLER, S., KIECHLE, M., JÄNICKE, F. & THOMSEN, C. 2013. Ten-year analysis of the prospective multicentre Chemo-N0 trial validates American Society of Clinical Oncology (ASCO)-recommended biomarkers uPA and PAI-1 for therapy decision making in node-negative breast cancer patients. *Eur J Cancer*, 49, 1825-35.
- HARRIS, L. N., ISMAILA, N., MCSHANE, L. M., ANDRE, F., COLLYAR, D. E., GONZALEZ-ANGULO, A. M., HAMMOND, E. H., KUDERER, N. M., LIU, M. C., MENNEL, R. G., VAN POZNAK, C., BAST, R. C. & HAYES, D. F. 2016. Use of Biomarkers to Guide Decisions on Adjuvant Systemic Therapy for Women With Early-Stage Invasive Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol*, 34, 1134-50.
- HAVILAND, J. S., OWEN, J. R., DEWAR, J. A., AGRAWAL, R. K., BARRETT, J., BARRETT-LEE, P. J., DOBBS, H. J., HOPWOOD, P., LAWTON, P. A., MAGEE, B. J., MILLS, J., SIMMONS, S., SYDENHAM, M. A., VENABLES, K., BLISS, J. M. & YARNOLD, J. R. 2013. The UK Standardisation of Breast Radiotherapy (START) trials of radiotherapy hypofractionation for treatment of early breast cancer: 10-year follow-up results of two randomised controlled trials. *Lancet Oncol*, 14, 1086-1094.
- HEIMES, A. S. & SCHMIDT, M. 2019. Atezolizumab for the treatment of triple-negative breast cancer. *Expert Opin Investig Drugs*, 28, 1-5.
- HENDRICK, R. E., BAKER, J. A. & HELVIE, M. A. 2019. Breast cancer deaths averted over 3 decades. *Cancer*, 125, 1482-1488.

- HEUSINGER, K., LOEHLBERG, C. R., HAEBERLE, L., JUD, S. M., KLINGSIEK, P., HEIN, A., BAYER, C. M., RAUH, C., UDER, M., CAVALLARO, A., MAY, M. S., ADAMIETZ, B., SCHULZ-WENDTLAND, R., WITTENBERG, T., WAGNER, F., BECKMANN, M. W. & FASCHING, P. A. 2011. Mammographic density as a risk factor for breast cancer in a German case-control study. *Eur J Cancer Prev*, 20, 1-8.
- HO, W. C., DICKSON, K. M. & BARKER, P. A. 2005. Nuclear factor-kappaB induced by doxorubicin is deficient in phosphorylation and acetylation and represses nuclear factor-kappaB-dependent transcription in cancer cells. *Cancer Res*, 65, 4273-81.
- HODGSON, R., HEYWANG-KÖBRUNNER, S. H., HARVEY, S. C., EDWARDS, M., SHAIKH, J., ARBER, M. & GLANVILLE, J. 2016. Systematic review of 3D mammography for breast cancer screening. *Breast*, 27, 52-61.
- HOUSSAMI, N., MACASKILL, P., MARINOVICH, M. L. & MORROW, M. 2014. The association of surgical margins and local recurrence in women with early-stage invasive breast cancer treated with breast-conserving therapy: a meta-analysis. *Ann Surg Oncol*, 21, 717-30.
- HUBER, M. A., AZOITEI, N., BAUMANN, B., GRÜNERT, S., SOMMER, A., PEHAMBERGER, H., KRAUT, N., BEUG, H. & WIRTH, T. 2004. NF-kappaB is essential for epithelial-mesenchymal transition and metastasis in a model of breast cancer progression. *J Clin Invest*, 114, 569-81.
- HUDIS, C. A. 2007. Trastuzumab--mechanism of action and use in clinical practice. *N Engl J Med*, 357, 39-51.
- HUGH, J., HANSON, J., CHEANG, M. C., NIELSEN, T. O., PEROU, C. M., DUMONTET, C., REED, J., KRAJEWSKA, M., TREILLEUX, I., RUPIN, M., MAGHERINI, E., MACKAY, J., MARTIN, M. & VOGEL, C. 2009. Breast cancer subtypes and response to docetaxel in node-positive breast cancer: use of an immunohistochemical definition in the BCIRG 001 trial. *J Clin Oncol*, 27, 1168-76.
- INDRA, MANGINSTAR, C., ISLAM, A. A., SAMPEPAJUNG, D., HAMDANI, W., BUKHARI, A., SYAMSU, S. A., PRIHANTONO, SMARADANIA, N. & FARUK, M. 2021. The relationship between NFKB, HER2, ER expression and anthracycline -based neoadjuvant chemotherapy response in local advanced stadium breast cancer: A cohort study in Eastern Indonesia. *Ann Med Surg (Lond)*, 63, 102164.
- INWALD, E. C., KLINKHAMMER-SCHALKE, M., HOFSTÄDTER, F., ZEMAN, F., KOLLER, M., GERSTENHAUER, M. & ORTMANN, O. 2013. Ki-67 is a prognostic parameter in breast cancer patients: results of a large population-based cohort of a cancer registry. *Breast Cancer Res Treat*, 139, 539-52.
- JAGSI, R., CHADHA, M., MONI, J., BALLMAN, K., LAURIE, F., BUCHHOLZ, T. A., GIULIANO, A. & HAFFTY, B. G. 2014. Radiation field design in the ACOSOG Z0011 (Alliance) Trial. *J Clin Oncol*, 32, 3600-6.
- KAST, K., RHIEM, K., WAPPENSCHMIDT, B., HAHNEN, E., HAUKE, J., BLUEMCKE, B., ZARGHOONI, V., HEROLD, N., DITSCH, N., KIECHLE, M., BRAUN, M., FISCHER, C., DIKOW, N., SCHOTT, S., RAHNER, N., NIEDERACHER, D., FEHM, T., GEHRIG, A., MUELLER-REIBLE, C., ARNOLD, N., MAASS, N., BORCK, G., DE GREGORIO, N., SCHOLZ, C., AUBER, B., VARON-MANTEEVA, R., SPEISER, D., HORVATH, J., LICHEY, N., WIMBERGER, P., STARK, S., FAUST, U., WEBER, B. H., EMONS, G., ZACHARIAE, S., MEINDL, A., SCHMUTZLER, R. K. & ENGEL, C. 2016. Prevalence of BRCA1/2 germline mutations in 21 401 families with breast and ovarian cancer. *J Med Genet*, 53, 465-71.

- KAUFMANN, M. & SCHARL, A. 2012. Mamma. *In: KAUFMANN, M., COSTA, S. D. & SCHARL, A. (eds.) Die Gynäkologie*. 3rd ed. Berlin: Springer.
- KAUFMANN, M., V. MINCKWITZ, G., SCHARL, A., COSTA, S. D. & LINDER, M. 2012. Mammakarzinom. *In: KAUFMANN, M., COSTA, S. D. & SCHARL, A. (eds.) Die Gynäkologie*. 3rd ed. Berlin: Springer.
- KHONGTHONG, P., ROSEWEIR, A. K. & EDWARDS, J. 2019. The NF-KB pathway and endocrine therapy resistance in breast cancer. *Endocr Relat Cancer*, 26, R369-r380.
- KIDERLEN, M., PONTI, A., TOMATIS, M., BOELEN, P. G., BASTIAANNET, E., WILSON, R., VAN DE VELDE, C. J. & AUDISIO, R. A. 2015. Variations in compliance to quality indicators by age for 41,871 breast cancer patients across Europe: a European Society of Breast Cancer Specialists database analysis. *Eur J Cancer*, 51, 1221-30.
- KOLLESCH, J. & NICKEL, D. 1994. Nosologie und Therapie. *In: KOLLESCH, J. & NICKEL, D. (eds.) Antike Heilkunst, Ausgewählte Texte*. Stuttgart: Philipp Reclam jun.
- KROP, I., ISMAILA, N., ANDRE, F., BAST, R. C., BARLOW, W., COLLYAR, D. E., HAMMOND, M. E., KUDERER, N. M., LIU, M. C., MENNEL, R. G., VAN POZNAK, C., WOLFF, A. C. & STEARNS, V. 2017. Use of Biomarkers to Guide Decisions on Adjuvant Systemic Therapy for Women With Early-Stage Invasive Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Focused Update. *J Clin Oncol*, 35, 2838-2847.
- LEITLINIENPROGRAMM AWMF 2020. *Peri- und Postmenopause - Diagnosis and Interventions. Guideline of the DGGG, SGGG and OEGGG (S3 Level, AWMF Registry No. 015-062* [Online]. Available: <http://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/015-062.html> [Accessed 30-09-2020].
- LEITLINIENPROGRAMM ONKOLOGIE (DEUTSCHE KREBSGESELLSCHAFT; DEUTSCHE KREBSHILFE; AWMF) 2017. *S3-Leitlinie Früherkennung, Diagnose, Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms, Langversion 4.0, AWMF Registernummer: 032-045OL* [Online]. Available: <http://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/mammakarzinom> [Accessed 21.10.2017].
- LEITLINIENPROGRAMM ONKOLOGIE (DEUTSCHE KREBSGESELLSCHAFT; DEUTSCHE KREBSHILFE; AWMF) 2020. *S3-Leitlinie Früherkennung, Diagnose, Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms, Langversion 4.3, AWMF Registernummer: 032-045OL* [Online]. Available: <http://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/mammakarzinom> [Accessed 30-09-2020].
- LEUNG, S. C. Y., NIELSEN, T. O., ZABAGLO, L. A., ARUN, I., BADVE, S. S., BANE, A. L., BARTLETT, J. M. S., BORGQUIST, S., CHANG, M. C., DODSON, A., EHINGER, A., FINEBERG, S., FOCKE, C. M., GAO, D., GOWN, A. M., GUTIERREZ, C., HUGH, J. C., KOS, Z., LAENKHOLM, A. V., MASTROPASQUA, M. G., MORIYA, T., NOFECH-MOZES, S., OSBORNE, C. K., PENAULT-LLORCA, F. M., PIPER, T., SAKATANI, T., SALGADO, R., STARCZYNSKI, J., SUGIE, T., VAN DER VEGT, B., VIALE, G., HAYES, D. F., MCSHANE, L. M. & DOWSETT, M. 2019. Analytical validation of a standardised scoring protocol for Ki67 immunohistochemistry on breast cancer excision whole sections: an international multicentre collaboration. *Histopathology*, 75, 225-235.
- LYMAN, G. H., TEMIN, S., EDGE, S. B., NEWMAN, L. A., TURNER, R. R., WEAVER, D. L., BENSON, A. B., 3RD, BOSSERMAN, L. D., BURSTEIN, H. J., CODY, H., 3RD, HAYMAN, J., PERKINS, C. L., PODOLOFF, D. A. &

- GIULIANO, A. E. 2014. Sentinel lymph node biopsy for patients with early-stage breast cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*, 32, 1365-83.
- MADRID, L. V., MAYO, M. W., REUTHER, J. Y. & BALDWIN, A. S., JR. 2001. Akt stimulates the transactivation potential of the RelA/p65 Subunit of NF-kappa B through utilization of the I kappa B kinase and activation of the mitogen-activated protein kinase p38. *J Biol Chem*, 276, 18934-40.
- MAVADDAT, N., REBBECK, T. R., LAKHANI, S. R., EASTON, D. F. & ANTONIOU, A. C. 2010. Incorporating tumour pathology information into breast cancer risk prediction algorithms. *Breast Cancer Res*, 12, R28.
- MCGALE, P., TAYLOR, C., CORREA, C., CUTTER, D., DUANE, F., EWERTZ, M., GRAY, R., MANNU, G., PETO, R., WHELAN, T., WANG, Y., WANG, Z. & DARBY, S. 2014. Effect of radiotherapy after mastectomy and axillary surgery on 10-year recurrence and 20-year breast cancer mortality: meta-analysis of individual patient data for 8135 women in 22 randomised trials. *Lancet*, 383, 2127-35.
- MENGELE, K., NAPIERALSKI, R., MAGDOLEN, V., REUNING, U., GKAZEPIS, A., SWEEP, F., BRÜNNER, N., FOEKENS, J., HARBECK, N. & SCHMITT, M. 2010. Characteristics of the level-of-evidence-1 disease forecast cancer biomarkers uPA and its inhibitor PAI-1. *Expert Rev Mol Diagn*, 10, 947-62.
- MOJA, L., TAGLIABUE, L., BALDUZZI, S., PARMELLI, E., PISTOTTI, V., GUARNERI, V. & D'AMICO, R. 2012. Trastuzumab containing regimens for early breast cancer. *Cochrane Database Syst Rev*, 2012, Cd006243.
- MORAN, M. S., SCHNITT, S. J., GIULIANO, A. E., HARRIS, J. R., KHAN, S. A., HORTON, J., KLIMBERG, S., CHAVEZ-MACGREGOR, M., FREEDMAN, G., HOUSSAMI, N., JOHNSON, P. L. & MORROW, M. 2014. Society of Surgical Oncology-American Society for Radiation Oncology consensus guideline on margins for breast-conserving surgery with whole-breast irradiation in stages I and II invasive breast cancer. *Ann Surg Oncol*, 21, 704-16.
- MOREL, J. C., IQBAL, A., WASAN, R. K., PEACOCK, C., EVANS, D. R., RAHIM, R., GOLIGHER, J. & MICHELL, M. J. 2014. The accuracy of digital breast tomosynthesis compared with coned compression magnification mammography in the assessment of abnormalities found on mammography. *Clin Radiol*, 69, 1112-6.
- MURARO, E., COMARO, E., TALAMINI, R., TURCHET, E., MIOLO, G., SCALONE, S., MILITELLO, L., LOMBARDI, D., SPAZZAPAN, S., PERIN, T., MASSARUT, S., CRIVELLARI, D., DOLCETTI, R. & MARTORELLI, D. 2015. Improved Natural Killer cell activity and retained anti-tumor CD8(+) T cell responses contribute to the induction of a pathological complete response in HER2-positive breast cancer patients undergoing neoadjuvant chemotherapy. *J Transl Med*, 13, 204.
- NOLAN, E., LINDEMAN, G. J. & VISVADER, J. E. 2017. Out-RANKing BRCA1 in Mutation Carriers. *Cancer Res*, 77, 595-600.
- NOLAN, E., VAILLANT, F., BRANSTETTER, D., PAL, B., GINER, G., WHITEHEAD, L., LOK, S. W., MANN, G. B., ROHRBACH, K., HUANG, L. Y., SORIANO, R., SMYTH, G. K., DOUGALL, W. C., VISVADER, J. E. & LINDEMAN, G. J. 2016. RANK ligand as a potential target for breast cancer prevention in BRCA1-mutation carriers. *Nat Med*, 22, 933-9.
- NOSS, D. & ORTMANN 2012. Klimakterium und Menopause. In: KAUFMANN, M., COSTA, S. D. & SCHARL, A. (eds.) *Die Gynäkologie*. 3rd ed. Berlin: Springer.
- OEFFINGER, K. C., FONTHAM, E. T., ETZIONI, R., HERZIG, A., MICHAELSON, J. S., SHIH, Y. C., WALTER, L. C., CHURCH, T. R., FLOWERS, C. R.,

- LAMONTE, S. J., WOLF, A. M., DESANTIS, C., LORTET-TIEULENT, J., ANDREWS, K., MANASSARAM-BAPTISTE, D., SASLOW, D., SMITH, R. A., BRAWLEY, O. W. & WENDER, R. 2015. Breast Cancer Screening for Women at Average Risk: 2015 Guideline Update From the American Cancer Society. *Jama*, 314, 1599-614.
- PACI, E. 2012. Summary of the evidence of breast cancer service screening outcomes in Europe and first estimate of the benefit and harm balance sheet. *J Med Screen*, 19 Suppl 1, 5-13.
- PARK, Y. H. 2017. The nuclear factor-kappa B pathway and response to treatment in breast cancer. *Pharmacogenomics*, 18, 1697-1709.
- PEROU, C. M., SØRLIE, T., EISEN, M. B., VAN DE RIJN, M., JEFFREY, S. S., REES, C. A., POLLACK, J. R., ROSS, D. T., JOHNSEN, H., AKSLEN, L. A., FLUGE, O., PERGAMENSCHIKOV, A., WILLIAMS, C., ZHU, S. X., LØNNING, P. E., BØRRESEN-DALE, A. L., BROWN, P. O. & BOTSTEIN, D. 2000. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*, 406, 747-52.
- PERRY, N., BROEDERS, M., DE WOLF, C., TÖRNBERG, S., HOLLAND, R. & VON KARSA, L. 2008. European guidelines for quality assurance in breast cancer screening and diagnosis. Fourth edition--summary document. *Ann Oncol*, 19, 614-22.
- PETO, R., DAVIES, C., GODWIN, J., GRAY, R., PAN, H. C., CLARKE, M., CUTTER, D., DARBY, S., MCGALE, P., TAYLOR, C., WANG, Y. C., BERGH, J., DI LEO, A., ALBAIN, K., SWAIN, S., PICCART, M. & PRITCHARD, K. 2012. Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: meta-analyses of long-term outcome among 100,000 women in 123 randomised trials. *Lancet*, 379, 432-44.
- PETRELLI, F., VIALE, G., CABIDDU, M. & BARNI, S. 2015. Prognostic value of different cut-off levels of Ki-67 in breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 64,196 patients. *Breast Cancer Res Treat*, 153, 477-91.
- PIPER, M., PELED, A. W., FOSTER, R. D., MOORE, D. H. & ESSERMAN, L. J. 2013. Total skin-sparing mastectomy: a systematic review of oncologic outcomes and postoperative complications. *Ann Plast Surg*, 70, 435-7.
- POMMIER, Y., SORDET, O., ANTONY, S., HAYWARD, R. L. & KOHN, K. W. 2004. Apoptosis defects and chemotherapy resistance: molecular interaction maps and networks. *Oncogene*, 23, 2934-49.
- PRAT, A. & PEROU, C. M. 2009. Mammary development meets cancer genomics. *Nat Med*, 15, 842-4.
- PRAT, A., PINEDA, E., ADAMO, B., GALVÁN, P., FERNÁNDEZ, A., GABA, L., DÍEZ, M., VILADOT, M., ARANCE, A. & MUÑOZ, M. 2015. Clinical implications of the intrinsic molecular subtypes of breast cancer. *Breast*, 24 Suppl 2, S26-35.
- PRATT, M. A., TIBBO, E., ROBERTSON, S. J., JANSSON, D., HURST, K., PEREZ-IRATXETA, C., LAU, R. & NIU, M. Y. 2009. The canonical NF-kappaB pathway is required for formation of luminal mammary neoplasias and is activated in the mammary progenitor population. *Oncogene*, 28, 2710-22.
- RAKHA, E. A. & ELLIS, I. O. 2007. An overview of assessment of prognostic and predictive factors in breast cancer needle core biopsy specimens. *J Clin Pathol*, 60, 1300-6.
- RAPHAEL, J., DESAUTELS, D., PRITCHARD, K. I., PETKOVA, E. & SHAH, P. S. 2018. Phosphoinositide 3-kinase inhibitors in advanced breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer*, 91, 38-46.
- RASTOGI, P., ANDERSON, S. J., BEAR, H. D., GEYER, C. E., KAHLLENBERG, M. S., ROBIDOUX, A., MARGOLESE, R. G., HOEHN, J. L., VOGEL, V. G., DAKHIL, S. R., TAMKUS, D., KING, K. M., PAJON, E. R., WRIGHT, M. J.,

- ROBERT, J., PAIK, S., MAMOUNAS, E. P. & WOLMARK, N. 2008. Preoperative chemotherapy: updates of National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocols B-18 and B-27. *J Clin Oncol*, 26, 778-85.
- RECHT, A., COMEN, E. A., FINE, R. E., FLEMING, G. F., HARDENBERGH, P. H., HO, A. Y., HUDIS, C. A., HWANG, E. S., KIRSHNER, J. J., MORROW, M., SALERNO, K. E., SLEDGE, G. W., JR., SOLIN, L. J., SPEARS, P. A., WHELAN, T. J., SOMERFIELD, M. R. & EDGE, S. B. 2016. Postmastectomy Radiotherapy: An American Society of Clinical Oncology, American Society for Radiation Oncology, and Society of Surgical Oncology Focused Guideline Update. *J Clin Oncol*, 34, 4431-4442.
- REIMER, T., HARTMANN, S., STACHS, A. & GERBER, B. 2014. Local treatment of the axilla in early breast cancer: concepts from the national surgical adjuvant breast and bowel project B-04 to the planned intergroup sentinel mamma trial. *Breast Care (Basel)*, 9, 87-95.
- REMMELE, W. & STEGNER, H. E. 1987. [Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue]. *Pathologe*, 8, 138-40.
- RENEHAN, A. G., TYSON, M., EGGER, M., HELLER, R. F. & ZWAHLEN, M. 2008. Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. *Lancet*, 371, 569-78.
- ROBERT KOCH INSTITUT. 2019. *Krebs in Deutschland für 2015/2016* [Online]. Available: <https://www.rki.de> [Accessed 30.11.2020].
- ROBSON, M., IM, S. A., SENKUS, E., XU, B., DOMCHEK, S. M., MASUDA, N., DELALOGUE, S., LI, W., TUNG, N., ARMSTRONG, A., WU, W., GOESSL, C., RUNSWICK, S. & CONTE, P. 2017. Olaparib for Metastatic Breast Cancer in Patients with a Germline BRCA Mutation. *N Engl J Med*, 377, 523-533.
- ROJAS, K. & STUCKEY, A. 2016. Breast Cancer Epidemiology and Risk Factors. *Clin Obstet Gynecol*, 59, 651-672.
- ROSEN, P. P., GROSHEN, S., KINNE, D. W. & NORTON, L. 1993. Factors influencing prognosis in node-negative breast carcinoma: analysis of 767 T1N0M0/T2N0M0 patients with long-term follow-up. *J Clin Oncol*, 11, 2090-100.
- RÜSCHOFF, J., LEBEAU, A., KREIPE, H., SINN, P., GERHARZ, C. D., KOCH, W., MORRIS, S., AMMANN, J. & UNTCH, M. 2017. Assessing HER2 testing quality in breast cancer: variables that influence HER2 positivity rate from a large, multicenter, observational study in Germany. *Mod Pathol*, 30, 217-226.
- RYDÉN, L., HEIBERT ARNLIND, M., VITOLS, S., HÖISTAD, M. & AHLGREN, J. 2016. Aromatase inhibitors alone or sequentially combined with tamoxifen in postmenopausal early breast cancer compared with tamoxifen or placebo - Meta-analyses on efficacy and adverse events based on randomized clinical trials. *Breast*, 26, 106-14.
- SAMPEPAJUNG, E., HAMDANI, W., SAMPEPAJUNG, D. & PRIHANTONO, P. 2021. Overexpression of NF-κB as a predictor of neoadjuvant chemotherapy response in breast cancer. *Breast Dis*, 40, S45-s53.
- SAU, A., LAU, R., CABRITA, M. A., NOLAN, E., CROOKS, P. A., VISVADER, J. E. & PRATT, M. A. 2016. Persistent Activation of NF-κB in BRCA1-Deficient Mammary Progenitors Drives Aberrant Proliferation and Accumulation of DNA Damage. *Cell Stem Cell*, 19, 52-65.
- SCHILLING, D., KÜHNEL, A., TETZLAFF, F., KONRAD, S. & MULTHOFF, G. 2015. NZ28-induced inhibition of HSF1, SP1 and NF-κB triggers the loss of the natural killer cell-activating ligands MICA/B on human tumor cells. *Cancer Immunol Immunother*, 64, 599-608.

- SCHMIDT, M., THOMSEN, C. & UNTCH, M. 2016. Intrinsic Subtypes of Primary Breast Cancer--Gene Expression Analysis. *Oncol Res Treat*, 39, 102-10.
- SCHMITT, M., MENGELE, K., NAPIERALSKI, R., MAGDOLEN, V., REUNING, U., GKAZEPIS, A., SWEEP, F., BRÜNNER, N., FOEKENS, J. & HARBECK, N. 2010. Clinical utility of level-of-evidence-1 disease forecast cancer biomarkers uPA and its inhibitor PAI-1. *Expert Rev Mol Diagn*, 10, 1051-67.
- SCHÜTZE, S., WIEGMANN, K., MACHLEIDT, T. & KRÖNKE, M. 1995. TNF-induced activation of NF-kappa B. *Immunobiology*, 193, 193-203.
- SCHWARTZ, A. M., HENSON, D. E., CHEN, D. & RAJAMARTHANDAN, S. 2014. Histologic grade remains a prognostic factor for breast cancer regardless of the number of positive lymph nodes and tumor size: a study of 161 708 cases of breast cancer from the SEER Program. *Arch Pathol Lab Med*, 138, 1048-52.
- SLAMON, D. J., CLARK, G. M., WONG, S. G., LEVIN, W. J., ULLRICH, A. & MCGUIRE, W. L. 1987. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*, 235, 177-82.
- SØRLIE, T., PEROU, C. M., TIBSHIRANI, R., AAS, T., GEISLER, S., JOHNSEN, H., HASTIE, T., EISEN, M. B., VAN DE RIJN, M., JEFFREY, S. S., THORSEN, T., QUIST, H., MATESE, J. C., BROWN, P. O., BOTSTEIN, D., LØNNING, P. E. & BØRRESEN-DALE, A. L. 2001. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98, 10869-74.
- STANG, A. & KÄÄB-SANYAL, V. 2019. Mammografie-Screening: Weniger Mastektomien seit systematischer Früherkennung. *Dtsch Arztebl*, 116, 2243-2245.
- SWAIN, S. M., KIM, S. B., CORTÉS, J., RO, J., SEMIGLAZOV, V., CAMPONE, M., CIRUELOS, E., FERRERO, J. M., SCHNEEWEISS, A., KNOTT, A., CLARK, E., ROSS, G., BENYUNES, M. C. & BASELGA, J. 2013. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel for HER2-positive metastatic breast cancer (CLEOPATRA study): overall survival results from a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 study. *Lancet Oncol*, 14, 461-71.
- SWEEP, C. G., GEURTS-MOESPOT, J., GREBENSCHIKOV, N., DE WITTE, J. H., HEUVEL, J. J., SCHMITT, M., DUFFY, M. J., JÄNICKE, F., KRAMER, M. D., FOEKENS, J. A., BRÜNNER, N., BRUGAL, G., PEDERSEN, A. N. & BENRAAD, T. J. 1998. External quality assessment of trans-European multicentre antigen determinations (enzyme-linked immunosorbent assay) of urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its type 1 inhibitor (PAI-1) in human breast cancer tissue extracts. *Br J Cancer*, 78, 1434-41.
- TAPIA, M. A., GONZÁLEZ-NAVARRETE, I., DALMASES, A., BOSCH, M., RODRIGUEZ-FANJUL, V., ROLFE, M., ROSS, J. S., MEZQUITA, J., MEZQUITA, C., BACHS, O., GASCÓN, P., ROJO, F., PERONA, R., ROVIRA, A. & ALBANELL, J. 2007. Inhibition of the canonical IKK/NF kappa B pathway sensitizes human cancer cells to doxorubicin. *Cell Cycle*, 6, 2284-92.
- VALLABHAPURAPU, S. & KARIN, M. 2009. Regulation and function of NF-kappaB transcription factors in the immune system. *Annu Rev Immunol*, 27, 693-733.
- VERKASALO, P. K., KAPRIO, J., KOSKENVUO, M. & PUKKALA, E. 1999. Genetic predisposition, environment and cancer incidence: a nationwide twin study in Finland, 1976-1995. *Int J Cancer*, 83, 743-9.
- VERONESI, U., CASCINELLI, N., MARIANI, L., GRECO, M., SACCOZZI, R., LUINI, A., AGUILAR, M. & MARUBINI, E. 2002. Twenty-year follow-up of a randomized study comparing breast-conserving surgery with radical mastectomy for early breast cancer. *N Engl J Med*, 347, 1227-32.

- VON MINCKWITZ, G., UNTCH, M., NÜESCH, E., LOIBL, S., KAUFMANN, M., KÜMMEL, S., FASCHING, P. A., EIERMANN, W., BLOHMER, J. U., COSTA, S. D., MEHTA, K., HILFRICH, J., JACKISCH, C., GERBER, B., DU BOIS, A., HUOBER, J., HANUSCH, C., KONECNY, G., FETT, W., STICKELER, E., HARBECK, N., MÜLLER, V. & JÜNI, P. 2011. Impact of treatment characteristics on response of different breast cancer phenotypes: pooled analysis of the German neo-adjuvant chemotherapy trials. *Breast Cancer Res Treat*, 125, 145-56.
- VOSKUIL, D. W., VAN NES, J. G. H., JUNGGEURT, J. M. C., VAN DE VELDE, C. J. H., VAN LEEUWEN, F. E. & DE HAES, J. 2010. Maintenance of physical activity and body weight in relation to subsequent quality of life in postmenopausal breast cancer patients. *Ann Oncol*, 21, 2094-2101.
- WEIKEL, W., BECK, T., MITZE, M. & KNAPSTEIN, P. G. 1991. Immunohistochemical evaluation of growth fractions in human breast cancers using monoclonal antibody Ki-67. *Breast Cancer Res Treat*, 18, 149-54.
- WITTEKIND, C. 2020. *TNM Klassifikation maligner Tumoren. Korrigierter Nachdruck 2020 mit allen Ergänzungen der UICC aus den Jahren 2017-2019*, Weinheim, Wiley-VCH.
- WOLFF, A. C., HAMMOND, M. E., HICKS, D. G., DOWSETT, M., MCSHANE, L. M., ALLISON, K. H., ALLRED, D. C., BARTLETT, J. M., BILOUS, M., FITZGIBBONS, P., HANNA, W., JENKINS, R. B., MANGU, P. B., PAIK, S., PEREZ, E. A., PRESS, M. F., SPEARS, P. A., VANCE, G. H., VIALE, G. & HAYES, D. F. 2013. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*, 31, 3997-4013.
- WOOSTER, R., NEUHAUSEN, S. L., MANGION, J., QUIRK, Y., FORD, D., COLLINS, N., NGUYEN, K., SEAL, S., TRAN, T., AVERILL, D. & ET AL. 1994. Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13. *Science*, 265, 2088-90.
- WORLD CANCER RESEARCH FUND AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH 2007. *Ernährung, körperliche Aktivität und Krebsprävention: Eine globale Perspektive* [Online]. Available: <https://www.wcrf.org> [Accessed 30.09.2020].
- WORLD CANCER RESEARCH FUND AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH CONTINUOUS UPDATE PROJECT 2020. *Der Dritte Expertenbericht: Ernährung, körperliche Aktivität und Krebs: Eine globale Perspektive* [Online]. Available: <https://www.wcrf.org> [Accessed 30.09.2020].
- WUNDERLE, M., PRETSCHER, J., BRUCKER, S. Y., VOLZ, B., HARTMANN, A., FIESSLER, C., HEIN, A., HÄBERLE, L., JUD, S. M., LUX, M. P., JANNI, W., LOEHLBERG, C. R., HARTKOPF, A. D., WALTER, C. B., BAAKE, G., FRIDMAN, A., MALTER, W., WUERSTLEIN, R., HARBECK, N., HOFFMANN, O., KÜMMEL, S., MARTIN, B., THOMSEN, C., GRAF, H., WOLF, C., BAYER, C. M., HACK, C. C., ALMSTEDT, K., GASS, P., HEINDL, F., BRODKORB, T. F., NABIEVA, N., LINDNER, C., KOLBERG, H. C., KRABISCH, P., WEIGEL, M., STEINFELD-BIRG, D., KOHLS, A., BRUCKER, C., SCHULZ, V., FISCHER, G., PELZER, V., WALLWIENER, D., RACK, B., FEHM, T., RODY, A., MAASS, N., BECKMANN, M. W., FASCHING, P. A. & RAUH, C. 2019. Association between breast cancer risk factors and molecular type in postmenopausal patients with hormone receptor-positive early breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 174, 453-461.

- YAMAGUCHI, N., ITO, T., AZUMA, S., ITO, E., HONMA, R., YANAGISAWA, Y., NISHIKAWA, A., KAWAMURA, M., IMAI, J., WATANABE, S., SEMBA, K. & INOUE, J. 2009. Constitutive activation of nuclear factor-kappaB is preferentially involved in the proliferation of basal-like subtype breast cancer cell lines. *Cancer Sci*, 100, 1668-74.
- YERUSHALMI, R., WOODS, R., RAVDIN, P. M., HAYES, M. M. & GELMON, K. A. 2010. Ki67 in breast cancer: prognostic and predictive potential. *Lancet Oncol*, 11, 174-83.
- YI, M., HUO, L., KOENIG, K. B., MITTENDORF, E. A., MERIC-BERNSTAM, F., KUERER, H. M., BEDROSIAN, I., BUZDAR, A. U., SYMMANS, W. F., CROW, J. R., BENDER, M., SHAH, R. R., HORTOBAGYI, G. N. & HUNT, K. K. 2014. Which threshold for ER positivity? a retrospective study based on 9639 patients. *Ann Oncol*, 25, 1004-11.
- ZELIGS, K. P., NEUMAN, M. K. & ANNUNZIATA, C. M. 2016. Molecular Pathways: The Balance between Cancer and the Immune System Challenges the Therapeutic Specificity of Targeting Nuclear Factor- κ B Signaling for Cancer Treatment. *Clin Cancer Res*, 22, 4302-8.
- ZHOU, J., ZHANG, J., LICHTENHELD, M. G. & MEADOWS, G. G. 2002. A role for NF-kappa B activation in perforin expression of NK cells upon IL-2 receptor signaling. *J Immunol*, 169, 1319-25.
- ZHOU, X. L., FAN, W., YANG, G. & YU, M. X. 2014. The clinical significance of PR, ER, NF- κ B, and TNF- α in breast cancer. *Dis Markers*, 2014, 494581.
- ZWIENER, I., BLETTNER, M. & HOMMEL, G. 2011. Survival analysis: part 15 of a series on evaluation of scientific publications. *Dtsch Arztebl Int*, 108, 163-9.

8 Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei all jenen bedanken, die es mir ermöglicht haben, mein Studium und diese Doktorarbeit fertigzustellen.