

Aus dem Departement für Frauengesundheit Tübingen
Universitäts-Frauenklinik

**„Die Bedeutung der Tumorzell dissemination ins
Knochenmark bei Patientinnen mit primärem, nicht
metastasiertem Mammakarzinom“**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät
der Eberhardt Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Neuscheler, Paul Michael

2019

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. F.-A. Taran
2. Berichterstatter: Professor Dr. T. Todenhöfer

Tag der Disputation: 23.09.2019

Meiner lieben Familie gewidmet

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	I
Tabellenverzeichnis	
Abkürzungsverzeichnis	
1 Einleitung	
1.1 Inzidenz des Mammakarzinoms	
1.2 Risikofaktoren.....	
1.3 Klassifikation von Mammakarzinomen	
1.3.1 TNM-Klassifikation	
1.3.2 Intrinsische, molekulare Tumorsubtypen	
1.3.3 Subtypenbestimmung mittels Immunhistochemie	
1.4 Tumorzell dissemination.....	
1.4.1 Allgemeines.....	
1.4.2 Schlafende Tumorzellen	
1.5 Fragestellung und Ziel der Arbeit	
2 Material und Methoden	
2.1 Patientendaten	
2.2 Datenauswertung	
2.3 Bestimmung des Knochenmarkstatus	
3 Ergebnisse	
3.1 Übersicht über das Patientenkollektiv	
3.2 Klinische Parameter vs. DTZ-Status	
3.2.1 Menopausenstatus vs. DTZ-Status	
3.2.2 Histologie vs. DTZ-Status.....	
3.2.3 Grading vs DTZ-Status.....	
3.2.4 T-Stadium vs. DTZ-Status	
3.2.5 Lymphknotenstatus vs. DTZ-Status	
3.2.6 ER-Status vs. DTZ-Status	
3.2.7 PR-Status vs. DTZ-Status	
3.2.8 HER2-Status vs. DTZ-Status.....	

3.2.9	Chemotherapie vs. DTZ-Status	
3.2.10	Hormontherapie vs. DTZ-Status	
3.2.11	Bisphosphonate vs. DTZ-Status	
3.2.12	Herceptin vs. DTZ-Status	
3.3	Tumorsubtyp vs. DTZ-Status	
3.3.1	Unterscheidung nach PR IRS	
3.3.2	Unterscheidung nach Oncotype Recurrence Score	
3.3.3	Unterscheidung nach Ki-67	
3.4	Überleben und Rezidivierung	
3.4.1	Rezidivfreies Überleben (DFS = disease free survival)	
3.4.1.1	DFS in Abhängigkeit vom DTZ-Status	
3.4.1.2	DFS in Abhängigkeit vom intrinsischen Subtyp	
3.4.1.3	DFS in Abhängigkeit vom DTZ-Status und intrinsischen Subtyp	
3.4.2	Gesamtüberleben (overall survival = OS)	
3.4.2.1	Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status	
3.4.2.2	Überleben in Abhängigkeit vom intrinsischen Subtyp	
3.4.2.3	Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status und Tumorsubtyp	
4	Diskussion	
4.1	Einfluss klinischer Parameter auf den DTZ-Status	
4.1.1	Menopausenstatus und DTZ-Status	
4.1.2	Histologie und DTZ-Status	
4.1.3	Grading und DTZ-Status	
4.1.4	Tumorstadium bzw. Tumorgöße und DTZ-Status	
4.1.5	Lymphknotenstatus und DTZ-Status	
4.1.6	Hormonrezeptorstatus und DTZ-Status	
4.1.7	HER2-Status und DTZ-Status	
4.2	Einfluss des intrinsischen Tumorsubtyps auf den DTZ-Status	
4.2.1	Unterscheidung nach PR IRS	
4.2.2	Unterscheidung nach Oncotype Recurrence Score	
4.2.3	Unterscheidung nach Ki-67	

4.3 Überleben und Rezidivierung (Prognose)	
4.3.1 Überleben und Rezidivierung in Abhängigkeit vom DTZ-Status	
4.3.2 Überleben und Rezidivierung in Abhängigkeit vom intrinsischen Subtyp	
4.3.3 Überleben und Rezidivierung in Abhängigkeit vom DTZ-Status und intrinsischen Subtyp.....	
5 Zusammenfassung.....	
6 Literaturverzeichnis	

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Eigenschaften der intrinsischen Subtypen	
Abb. 2: Bestimmung des cerbB2-Score	
Abb. 3: Altersverteilung der Patientinnen	
Abb. 4: Menopausenstatus im untersuchten Kollektiv	
Abb. 5: DTZ-Status in Abhängigkeit vom Menopausenstatus	
Abb. 6: Häufigkeit der histologischen Subtypen	
Abb. 7: DTZ-Status in Abhängigkeit vom histologischen Tumorsubtyp	
Abb. 8: Grading der Patientinnen	
Abb. 9: DTZ-Status in Abhängigkeit vom Grading	
Abb. 10: Häufigkeit der Tumorstadien	
Abb. 11: DTZ-Status in Abhängigkeit vom Tumorstadium	
Abb. 12: Häufigkeitsverteilung des Lymphknotenstatus	
Abb. 13: DTZ-Status in Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus	
Abb. 14: Östrogenrezeptorstatus im untersuchten Kollektiv	
Abb. 15: DTZ-Status in Abhängigkeit vom ER-Status	
Abb. 16: Progesteronrezeptorstatus im untersuchten Kollektiv	
Abb. 17: DTZ-Status in Abhängigkeit vom PR-Status	
Abb. 18: HER2-Status im untersuchten Kollektiv	
Abb. 19: DTZ-Status in Abhängigkeit vom HER2-Status	
Abb. 20: Häufigkeit einer Chemotherapie	
Abb. 21: DTZ-Status in Abhängigkeit von der Durchführung einer Chemotherapie	
Abb. 22: Häufigkeit einer Hormontherapie	
Abb. 23: DTZ-Status in Abhängigkeit von der Durchführung einer Hormontherapie	
Abb. 24: Häufigkeit einer Bisphosphonattherapie	
Abb. 25: DTZ-Status in Abhängigkeit von der Durchführung einer Bisphosphonattherapie	
Abb. 26: Häufigkeit einer Therapie mit Herceptin	

Abb. 27: DTZ-Status in Abhängigkeit von der Durchführung einer Herceptintherapie	
Abb. 28: Anteile der einzelnen Subtypen nach PR IRS	
Abb. 29: DTZ-Status in Abhängigkeit vom molekularen Tumorsubtyp nach PR IRS.....	
Abb. 30: Anteile der einzelnen Subtypen nach Oncotype RS	
Abb. 31: DTZ-Status in Abhängigkeit vom molekularen Tumorsubtyp nach Oncotype RS.....	
Abb. 32: Anteile der Subtypen nach Ki-67	
Abb. 33: DTZ-Status in Abhängigkeit vom molekularen Tumorsubtyp nach Ki-67.....	
Abb. 34: DFS in Abhängigkeit vom DTZ-Status	
Abb. 35: DFS in Abhängigkeit vom intrinsischen Subtyp.....	
Abb. 36: DFS in Abhängigkeit vom DTZ-Status bei Patientinnen mit luminal A Tumoren	
Abb. 37: DFS in Abhängigkeit vom DTZ-Status bei Patientinnen mit luminal B Tumoren.....	
Abb. 38: DFS in Abhängigkeit vom DTZ-Status bei Patientinnen mit HER2-positiven Tumoren	
Abb. 39: DFS in Abhängigkeit vom DTZ-Status bei Patientinnen mit triple-negativen Tumoren.....	
Abb. 40: Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status	
Abb. 41: Überleben in Abhängigkeit vom intrinsischen Subtyp	
Abb. 42: Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status bei Patientinnen mit luminal A Tumoren	
Abb. 43: Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status bei Patientinnen mit luminal B Tumoren.....	
Abb. 44: Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status bei Patientinnen mit HER2-positiven Tumoren.....	
Abb. 45: Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status bei Patientinnen mit triple-negativen Tumoren	

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Bestimmung des PR IRS.....	
Tab. 2: IHC Kriterien zur Subtypenbestimmung nach „The IMPAKT 2012 Working Group Statement“ ³	
Tab. 3: Ein- und Ausschlusskriterien des Patientenkollektivs.....	
Tab. 4: Patienten- und tumorspezifische Parameter im Einzelnen	
Tab. 5: Kriterien zur immunhistochemischen Subtypenbestimmung mittels PR IRS nach St. Gallen Consensus 2013 ²⁰	
Tab. 6: Kriterien zur Subtypenbestimmung mittels Ki-67 nach St. Gallen Consensus 2013 ²⁰	
Tab. 7: Kriterien zur Subtypenbestimmung mittels Oncotype RS nach St. Gallen Consensus 2013 ²⁰	
Tab. 8: Übersicht der Patientencharakteristika.....	
Tab. 9: DTZ-Status in Abhängigkeit vom Menopausenstatus	
Tab. 10: DTZ-Status in Abhängigkeit vom histologischen Tumorsubtyp	
Tab. 11: DTZ-Status in Abhängigkeit vom Grading	
Tab. 12: DTZ-Status in Abhängigkeit vom Tumorstadium.....	
Tab. 13: DTZ-Status in Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus.....	
Tab. 14: DTZ-Status in Abhängigkeit vom ER-Status	
Tab. 15: DTZ-Status in Abhängigkeit vom PR-Status	
Tab. 16: DTZ-Status in Abhängigkeit vom HER2-Status.....	
Tab. 17: DTZ-Status in Abhängigkeit von der Durchführung einer Chemotherapie	
Tab. 18: DTZ-Status in Abhängigkeit von der Durchführung einer Hormontherapie	
Tab. 19: DTZ-Status in Abhängigkeit von der Durchführung einer Bisphosphonattherapie	
Tab. 20: DTZ-Status in Abhängigkeit von der Durchführung einer Herceptintherapie.....	

Tab. 21: DTZ-Status in Abhängigkeit vom molekularen Tumorsubtyp nach PR IRS	
Tab. 22: DTZ-Status in Abhängigkeit vom molekularen Tumorsubtyp nach Oncotype RS.....	
Tab. 23: DTZ-Status in Abhängigkeit vom molekularen Tumorsubtyp nach Ki-67.....	
Tab. 24: DFS in Abhängigkeit vom DTZ-Status.....	
Tab. 25: DFS in Abhängigkeit vom intrinsischen Subtyp.....	
Tab. 26: DFS in Abhängigkeit vom DTZ-Status und intrinsischen Subtyp.....	
Tab. 27: Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status	
Tab. 28: Überleben in Abhängigkeit vom intrinsischen Subtyp	
Tab. 29: Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status und Tumorsubtyp	

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
BRCA 1/2	Breast Cancer Gene 1 / 2
DCIS	Ductales Carcinoma in situ
DFS	Disease free survival
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DTZ	Disseminierte Tumorzellen
ER	Östrogenrezeptor
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
G	Grading/Malignitätsgrad
GEP	Gene expression profiling (Genexpressionsanalyse)
HER2	Human epidermal growth factor receptor 2
IDC	Invasiv duktales Karzinom
ICH	Immunhistochemie
ILC	Invasiv lobuläres Karzinom
IRS	Immunreaktiver Score
KM	Knochenmark
L	Lymphangiosis carcinomatosa
M	Fernmetastasen
N	Nodalstatus
OS	Overall survival (Gesamtüberleben)
PCR	Polymerase chain reaction
PR	Progesteronrezeptor
RNA	Ribonukleinsäure
RS	Recurrence Score
T	Tumorstadium
Tab.	Tabelle
Tis	Tumor in situ
TNM	Tumor/Nodus/Metastasen
UICC	Union for International Cancer Control

WHO
ZTZ

World Health Organisation
Zirkulierende Tumorzellen

1 Einleitung

1.1 Inzidenz des Mammakarzinoms

Im Jahr 2010 erkrankten in Deutschland 224.910 Frauen an Krebs, davon 70.340 an Brustkrebs.¹ Dieser hat die mit großem Abstand höchste Erkrankungsrate², vor Darmkrebs mit 28.630 und Lungenkrebs mit 17.030 Neuerkrankungen pro Jahr. So waren im Jahr 2010 über 31% aller Krebsneuerkrankungen bei Frauen Fälle von Brustkrebs.¹ Etwa 12,9% der deutschen Frauen erkranken im Laufe ihres Lebens an Brustkrebs. Bei Frauen mit erblich bedingtem Mammakarzinom, welches meist durch Mutationen in den Genen BRCA1 und BRCA2 bedingt ist, kann das Lebenszeitrisiko über 80% betragen³. Die höchste Erkrankungsrate ist in der Gruppe der 65-69 Jährigen zu finden. Das durchschnittliche Alter zum Zeitpunkt der Erstdiagnose liegt mit 62 Jahren deutlich unterhalb des Durchschnitts aller Krebserkrankungen.⁴ Auch in der Liste der Sterbefälle bei Frauen belegte Brustkrebs im Jahr 2010 mit 17.466 Fällen vor Lungenkrebs mit 13.627 und Darmkrebs mit 12.510 Todesfällen den Spitzenplatz. Die Zahl der Sterbefälle durch alle Krebsarten betrug 2009 bei Frauen 100.403.¹ Brustkrebs ist damit laut Statistischem Bundesamt nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen die zweithäufigste Todesursache bei deutschen Frauen und war 2009 für 3,8% der Sterbefälle in dieser Gruppe verantwortlich, in der Gruppe der 45-64 jährigen Frauen in der europäischen Union sogar für über 12%.^{5, 6} Weltweit sterben Schätzungen der WHO zufolge jedes Jahr etwa 250.000 Menschen an den Folgen der Erkrankung. Brustkrebs ist aber nicht nur gegenwärtig die häufigste Krebsart bei Frauen, die Erkrankungsrate hat auch bei gleichzeitig sinkender Sterberate seit 2000 deutlich zugenommen^{1,7}, was für Fortschritte in der Behandlung von Brustkrebs spricht. Dennoch erhöhte sich die Zahl der Todesopfer von 2003 (17.173) bis 2005 (17.455) merklich.^{8, 9} Zwar wurde der Anstieg der Erkrankungsrate durch die Einführung des Mammographie-Screenings künstlich verstärkt, weil dadurch

viele nicht tastbare Tumoren diagnostiziert werden konnten, allerdings ist der Trend hin zu höheren Fallzahlen bei Brustkrebs (und generell in der Onkologie) vor allem auch durch den demographischen Wandel und dem damit einhergehenden größeren Anteil älterer Menschen bedingt.

1.2 Risikofaktoren

Es wird von einer multifaktoriellen Genese ausgegangen. Folgende sind die bedeutendsten Risikofaktoren:

Alter: Mit zunehmendem Alter steigt das Erkrankungsrisiko, je nach Studie sind Frauen zwischen 50 und 70 mit dem größten Risiko behaftet.¹⁰ In Deutschland ist den Untersuchungen des Robert-Koch-Instituts zufolge jede zweite neu erkrankte Patientin über 65 Jahre alt.

Familiäre bzw. genetische Disposition: In etwa 5-10% der Fälle sind Genmutationen, insbesondere der Gene BRCA-1 oder BRCA-2, für die Entstehung der Erkrankung verantwortlich.^{11,12} Weitere Risiko-Gene sind z.B. PALB, CHK2, ATM, P53, PTEN, NF1, CDH1, STK11 und andere.¹³

Hormonelle Einflüsse: Eine Reihe weiterer Faktoren wird für ein erhöhtes Brustkrebsrisiko verantwortlich gemacht, die allesamt einen Einfluss auf die Dauer oder die Konzentration des auf den Körper wirkenden Östrogens haben. Dazu gehören eine frühe Menarche, eine späte Menopause, eine Hormonersatztherapie und ein hohes Alter bei der Geburt des ersten Kindes sowie eine geringe Geburtenanzahl oder Kinderlosigkeit.^{11,12,14,15}

Exogene Einflüsse: Außerdem stehen auch ein ungesunder Lebenswandel mit wenig Bewegung, Adipositas, Alkoholkonsum sowie andere Umwelteinflüsse im Verdacht, das Erkrankungsrisiko zu erhöhen.¹⁶

1.3 Klassifikation von Mammakarzinomen

Ein wichtiger Schritt für eine erfolgreichere Behandlung war die Erkenntnis, dass Brustkrebs eine heterogene Erkrankung darstellt, deren Therapie nicht nur an das Stadium der Erkrankung, sondern auch an die individuellen biologischen Eigenschaften des jeweiligen Tumors angepasst werden muss.¹⁷

Um für eine einzelne Patientin eine möglichst exakte Prognose aufstellen und einen bestmöglichen, individuellen Therapieplan festlegen zu können, braucht es zuverlässige und aussagekräftige prognostische und prädiktive Faktoren. Prognostische Faktoren erlauben eine Einschätzung des Risikos für Rezidive und des Langzeitüberlebens, prädiktive Faktoren hingegen lassen Aussagen über die Wahrscheinlichkeit des Ansprechens auf eine bestimmte Therapie zu.¹⁸ Ein Faktor kann zugleich prognostische wie auch prädiktive Bedeutung haben, wie es beispielsweise beim Östrogenrezeptorstatus der Fall ist.¹⁹ Es werden derzeit eine Vielzahl solcher Faktoren auf ihre Eignung (ihren Wert) als prognose- oder therapierelevanter Parameter hin untersucht, allerdings wurden aufgrund von häufig noch mangelhafter Datenlage erst eine geringe Anzahl in klinische Empfehlungen und Leitlinien aufgenommen.²⁰

Lange Zeit standen nur einige wenige Parameter zur Einschätzung der Prognose sowie zur Auswahl geeigneter Therapieverfahren zur Verfügung. Im folgenden Abschnitt sind die klassischen Parameter zum Staging einer Brustkrebserkrankung auf Grundlage der TNM-Klassifikation der UICC beschrieben.

1.3.1 TNM-Klassifikation

Tumorgröße: Bei der Ausdehnung des Primärtumors werden 6 Stadien unterschieden:

T0 liegt vor, wenn kein Tumor nachgewiesen werden kann, etwa wenn dieser

nicht lokalisiert werden kann oder nach einer neoadjuvanten Therapie nicht mehr nachweisbar ist.

Tis („Tumor in situ“) beschreibt ein nicht invasives Stadium, bei dem die Basalmembran des jeweiligen betroffenen Gewebes noch nicht durchbrochen ist. Hierbei handelt es sich um eine obligate Präkanzerose.

T1 Tumoren weisen in der größten Ausdehnung einen Durchmesser von maximal 2 cm auf, T2 ist definiert mit einer Ausdehnung von 2-5 cm und T3 von größer als 5 cm. Ein Tumor wird als T4 eingestuft, wenn er die Haut oder die Brustwand infiltriert oder als sogenanntes inflammatorisches Karzinom zutage tritt²¹.

Es hat sich erwiesen, dass sich mit steigender Größe des Tumors zum Zeitpunkt der Diagnose die Prognose bezüglich der Überlebenswahrscheinlichkeit und des Rezidivrisikos signifikant verschlechtert.^{22, 23}

Nodalstatus: Zwar wird das Mammakarzinom inzwischen auch ohne den Nachweis einer Metastasierung als systemische Erkrankung angesehen, der Lymphknotenstatus ist dennoch ein prognostisch wichtiges und standardmäßig angewandtes Verfahren zur Einstufung einer Tumorerkrankung.^{24, 25, 26, 27}

Hierbei werden Lymphknoten, die im Abflussgebiet des erkrankten Gewebes liegen, in diesem Fall die axillären Lymphknoten, operativ entfernt und auf metastatischen Befall hin untersucht. Ausschlaggebend sind der Nachweis und die Anzahl befallener Lymphknoten. Um die Nebenwirkungen dieses Eingriffes zu minimieren wird häufig auch nur die erste Station des Abflussweges, der sogenannte Wächter- oder Sentinel-Lymphknoten, untersucht. Mit dieser Methode lässt sich mit hoher Wahrscheinlichkeit der Zustand der nachfolgenden Lymphwege voraussagen.²⁴

Nodalpositive Tumoren gehen im Vergleich zu nodalnegativen mit einer deutlich schlechteren Prognose einher.^{24, 28} Das gleiche gilt auch für Tumoren, bei denen lediglich eine Lymphangiosis carcinomatosa nachgewiesen wurde, also eine im histologischen Präparat sichtbare Tumorinvasion in Lymphgefäße.²⁹

Angegeben wird diese im TNM System mit der Abkürzung L0 oder L1.

Metastasierung: Haben sich auf hämatogenem Weg disseminierte Tumorzellen an anderer Stelle im Körper niedergelassen und sind dort bereits zu einem makroskopisch sichtbaren Tumorzellverband gewachsen, der eine Größe von mindestens 0,2 mm hat, spricht man von einer (Fern-) Metastase.

Es ist schon lange bekannt, dass bei Vorliegen einer oder mehrerer Fernmetastasen die Prognose signifikant schlechter ausfällt. Dies gilt auch für die Vorstufe der hämatogenen Metastasierung, die Hämangiosis carcinomatosa.³⁰ Hierbei handelt es sich um eine am histologischen Präparat nachgewiesene Infiltration eines Blutgefäßes durch den Tumor. Im TNM System wird die Abkürzung V0 oder V1 verwendet. Während ein Tumor im Stadium M0 noch kurativ behandelt werden kann, ist dies im Stadium M1 nicht mehr möglich und man spricht von einer palliativen Therapie.

Grading: Das Grading nach Bloom und Richardson misst den histologischen Differenzierungsgrad des Tumors, wobei in die Kategorien G1, G2 und G3 eingeteilt wird. Von G1 zu G3 nehmen der Grad der Differenzierung des Tumorgewebes und damit auch die histologische Übereinstimmung mit dem Ursprungsgewebe ab.

Steigendes Grading wird ebenfalls mit einer schlechter werdenden Prognose in Verbindung gebracht.³¹ Aufgrund der wenig objektiven Kriterien zur Einstufung der Tumoren wird seit einiger Zeit ein modifiziertes Grading nach Ellston und Ellis angewandt.³²

Histologie: Die Histologie als Lehre von den Geweben liefert Informationen über die Beschaffenheit eines Tumorgewebes, wie zum Beispiel Größe, Ursprung und andere Merkmale eines Tumors.

Das aus den Milchgängen hervorgehende invasiv duktales Karzinom ist mit 60-80% aller Tumoren die häufigste Form, gefolgt vom invasiv lobulären Karzinom, das etwa 15% aller Fälle ausmacht und aus den Lobuli entsteht.³³ Als wesentlich selteneren Formen sind medulläre, tubuläre, papilläre, invasiv-

kribbriforme, muzinöse und neuroendokrine Tumoren zu nennen, die zusammen für etwa 10% aller Brustkrebserkrankungen verantwortlich sind. Die Kenntnis des histologischen Tumorsubtyps liefert allerdings kaum prognostisch oder prädiktiv bedeutsame Informationen.

Durch die histologische Untersuchung einer Gewebeprobe lässt sich außerdem bestimmen, ob der Tumor die Basalmembran des ortsständigen Epithels durchbrochen hat und ob Lymph- oder Blutgefäße infiltriert sind. Häufig liegt die Lymph- oder Blutgefäßinfiltration allerdings außerhalb der Schnittebene des Präparates, wodurch ein falsch negatives Ergebnis entstehen kann.

1.3.2 Intrinsische, molekulare Tumorsubtypen

Mit der Etablierung moderner Analysetechniken in der Biochemie und Molekularbiologie und deren Anwendung im Bereich der Brustkrebsforschung zeigte sich, dass Mammakarzinome Unterschiede weit über die oben genannten hinweg aufweisen.

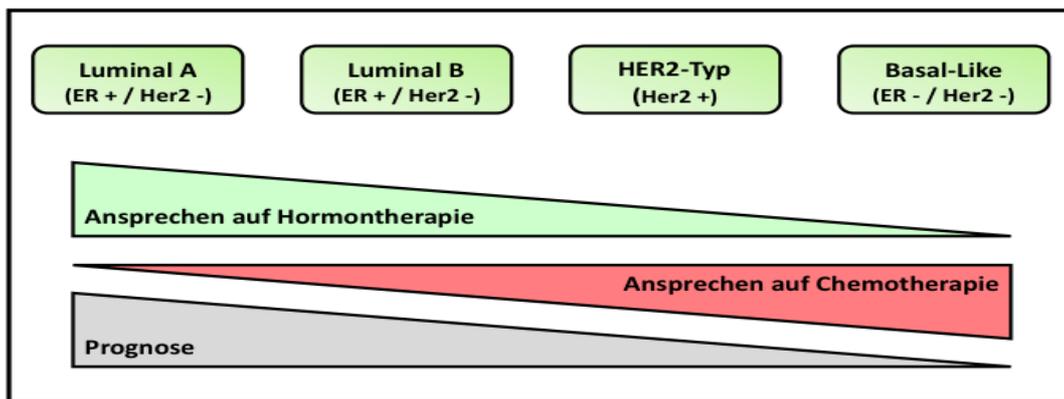
Durch die Genexpressionsanalyse kann untersucht werden, wie stark die Expression einzelner Genabschnitte oder des gesamten Genoms in Zellen stattfindet und so ein molekulares Bild eines Tumors erstellt werden, wobei vier Tumorsubtypen mit unterschiedlichen Mustern der Genexpression ausgemacht werden konnten. Dabei wird die messenger RNA untersucht, sodass im Ergebnis abgebildet wird, welche Gene zu diesem aktuellen Zeitpunkt von der Zelle exprimiert werden und in welchem Ausmaß oder Verhältnis dies geschieht. Perou et al.¹⁷ fanden im Jahr 2000 mit dieser Methode vier Subtypen des Mammakarzinoms: luminal-like, basal-like, Erb-B2-enriched und normal breast-like. Jeder dieser Subtypen zeichnete sich durch ein bestimmtes Expressionsmuster der für Hormonrezeptoren und Proliferation zuständigen Gene und durch die Anwesenheit der jeweiligen Rezeptoren auf der Zelloberfläche aus. Diese Einteilung wurde im Wesentlichen so beibehalten, bei den luminal-like Tumoren kam eine weitere Differenzierung in luminal a und luminal b hinzu.

Luminal-like: Luminal-like Tumoren, welche mit bis zu 80% aller Mammakarzinome die größte Gruppe darstellen, zeichnen sich durch eine Amplifikation der Gene für Östrogen- (ER) und Progesteronrezeptoren (PR) und durch ein dementsprechend vermehrtes Vorkommen dieser Rezeptoren auf der Zelloberfläche aus. Die Tumoren sprechen dadurch verhältnismäßig gut auf eine Hormontherapie an und zeigen außerdem ein weniger aggressives Wachstum als die anderen Subtypen. Die Überexpression von ER und PR hängt positiv mit dem Gesamtüberleben und dem rezidivfreien Überleben zusammen und ist somit ein prognostischer und prädiktiver Marker.³⁴ Tumoren des luminal-like Subtyps können durch Analyse der Hormonrezeptorgene und der Proliferationsgene weiter in luminal A und B unterteilt werden. Dabei weisen luminal A Tumore mehr Östrogen- und Progesteronrezeptoren und eine geringere Expression der Proliferationsgene auf als Tumoren des Subtyps luminal B.^{35, 36} Diese weitere Differenzierung bei luminal-like Tumoren ist relevant für die Prognose und zur Einschätzung der Effektivität einer zytotoxischen Chemotherapie.^{37, 20}

ErbB2-enriched: Eine weitere Gruppe bilden die Human-epidermal-growth-factor-receptor-2-positiven Tumoren (HER2), die sich durch eine Überexpression des HER2 und meist eine Amplifikation des *cerbB2*-Gens, das für den HER2-Rezeptor kodiert, bei geringer ER- und PR-Expression auszeichnen. Eine erhöhte Expression oder Amplifikation von HER2 bzw. *cerbB2* kann in 15 bis 30% aller Brustkrebsfälle beobachtet werden und wird mit einer schlechteren Prognose im Vergleich zum luminal-like Subtyp in Verbindung gebracht.^{38, 39, 40}

Die HER2-Rezeptoren bilden jedoch den Angriffspunkt für eine HER2-zielgerichtete Therapie, zum Beispiel mit dem Antikörper Trastuzumab aber auch für sogenannte Small-Molecules wie den Tyrosinkinase-Inhibitor Lapatinib.⁴¹

Basal-like: Die dritte große Gruppe bilden die dreifach negativen (basal-like) Tumoren, bei denen keiner der drei oben genannten Rezeptorgene in erhöhtem Maße exprimiert wird bzw. keines der Gene amplifiziert ist. Somit fehlt ein direkter Angriffspunkt wie im Falle der beiden hormonrezeptorpositiven Subtypen. Dieser Subtyp weist das aggressivste Wachstum und insgesamt die schlechteste Prognose auf.²⁰ Er tritt gehäuft bei Frauen auf, die Trägerin einer familiären BRCA1-Mutation sind. Abbildung 1 gibt einen Überblick über die Grundeigenschaften der einzelnen Subtypen.



Aus: Hartkopf et al., Onkologie heute 05/2011⁴²

Abb. 1: Eigenschaften der intrinsischen Subtypen⁴²

1.3.3 Subtypenbestimmung mittels Immunhistochemie

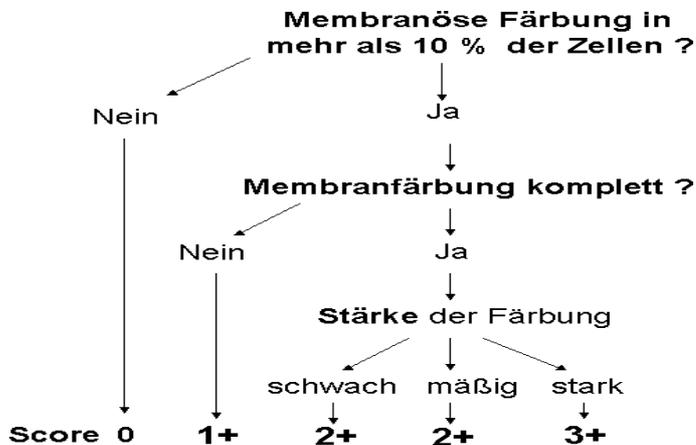
Da Genexpressionsanalysen aufwändige, kostenintensive, häufig nicht verfügbare und vor allem nicht standardisierte Verfahren sind, werden in der klinischen Routine in der Regel Surrogatparameter angewandt, um den Subtyp zu bestimmen. Hier findet vor allem die quantitative Rezeptoranalytik mittels Immunhistochemie (IHC) Anwendung. Mit diesem Verfahren können molekulare Strukturen einer Zelle, wie etwa Proteine, mit Hilfe eines markierten, an das jeweilige Antigen bindenden Antikörpers, sichtbar gemacht werden.

Daher werden heutzutage standardisiert bei allen Tumoren der Mamma die ER-, PR- und HER2-Rezeptor-Expression quantitativ auf Proteinebene bestimmt. Dies geschieht für Östrogen- und Progesteronrezeptoren wie in Tabelle 1 dargestellt unter anderem durch den Immunreaktiven Score (IRS).

Tab. 1: Bestimmung des PR IRS

	0 = keine Färbereaktion	1 = schwache Färbereaktion	2 = mäßige Färbereaktion	3 = starke Färbereaktion
0 = keine positive Zellen	IRS = 0	IRS = 0	IRS = 0	IRS = 0
1 = < 10% positive Zellen	IRS = 0	IRS = 1	IRS = 2	IRS = 3
2 = 10 - 50% positive Zellen	IRS = 0	IRS = 2	IRS = 4	IRS = 6
3 = 51 - 80% positive Zellen	IRS = 0	IRS = 3	IRS = 6	IRS = 9
4 = > 80% positive Zellen	IRS = 0	IRS = 4	IRS = 8	IRS = 12

Bei der Quantifizierung des HER2-Rezeptors wird wie in Abbildung 2 dargestellt verfahren.



Aus: *cerbB2* Score, Turzynski A, Internetseite Pathologen-Lübeck

Abb. 2: Bestimmung des *cerbB2*-Score⁴³

Bei einem Score von 2 wird ein Nachweis der tatsächlichen Genamplifikation durch Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) gefordert. Hierbei werden die zu untersuchenden DNA oder RNA Sequenzen mithilfe einer zu diesen komplementären, markierten Nukleinsäure, der Sonde, gebunden („Hybridisierung“) und schließlich direkt im Schnittpräparat bewertet. Neben der Rezeptoranalytik können Proteine, welche mit der Geschwindigkeit der Zellteilung korrelieren (sog. Proliferationsmarker) immunhistochemisch bestimmt werden: Hier wird vor allem Ki-67, ein Protein, das in sich teilenden Zellen vorkommt und dessen Konzentration somit einen Indikator für die Proliferationsrate darstellt, immunhistochemisch angefärbt. Der Wert gibt den prozentualen Anteil der angefärbten Zellkerne im Karzinomgewebe an. Ki-67 stellt sowohl einen prognostischen wie auch prädiktiven Faktor für die Effektivität einer Chemotherapie dar.

Tumoren mit hohen Ki-67 Werten weisen eine schlechtere Prognose auf als solche mit niedrigen Werten.^{44, 45, 46} Zudem wird Ki-67 in der klinischen Routine bei den Hormonrezeptor-positiven und HER2-negativen Tumoren zur

Differenzierung zwischen dem luminal A und B Subtyp verwendet. Es herrscht allerdings noch keine Einigkeit bezüglich eines optimalen Cut-off Wertes zwischen „hoch“ und „niedrig“ und damit zur Differenzierung zwischen luminal A und B. Cheang et al. fanden bei der Subtypenbestimmung die größte Übereinstimmung zwischen IHC und Genexpressionsanalyse, wenn Ki-67 Werte bis einschließlich 13% als niedrig und ab 14% als hoch interpretiert wurden.⁴⁷

Trotz allem kommen Genexpressionsanalyse und Immunhistochemie bei der Einteilung von Tumoren in die jeweiligen Subtypen nicht immer zum gleichen Ergebnis. In den vergangenen Jahren wurde daher intensiv daran gearbeitet, möglichst präzise Definitionen zur Klassifizierung mittels Immunhistochemie zu erarbeiten und neue Faktoren zu finden, die dabei helfen. Trotz der Abweichungen zwischen den beiden Verfahren wird die Einteilung mittels IHC von der St. Gallen International Breast Cancer Conference 2013 für den klinischen Alltag weiterhin empfohlen.²⁰ Tabelle 2 zeigt die aktuellen Richtlinien zur Subtypenbestimmung mittels Immunhistochemie und die Abweichungen im Ergebnis zwischen den beiden Methoden nach „The IMPAKT 2012 Working Group Statement“.⁴⁸

Tab. 2: IHC Kriterien zur Subtypenbestimmung nach „The IMPAKT 2012 Working Group Statement“⁴⁸

Intrinsic subtypes (GEP)	IHC classification (St. Gallen)	Agreement IHC/GEP
Luminal A	Luminal A' ER- and/or PR-positive HER2-negative Ki-67<14%	73%–100%
Luminal B	Luminal B (HER2 negative) ER- and/or PR-positive HER2-negative Ki-67 ≥14%	73%–100%
	Luminal B (HER2-positive) ER- and/or PR-positive Any Ki-67 HER2 over-expressed or amplified	
HER2-enriched	HER2-positive (non-luminal) HER2 over-expressed or amplified ER and PR absent	41%–69%
Basal-like	Triple-negative ER and PR absent HER2-negative	80,00%

Häufig werden daher zur Differenzierung zwischen luminal A und B Karzinomen bzw. zur Entscheidung, ob eine adjuvante Chemotherapie notwendig ist oder nicht, zusätzlich zu den klassischen histopathologischen Kriterien Genexpressionsanalysen angewandt, die mittlerweile von verschiedenen Firmen kommerziell angeboten werden. Vorteil ist, dass diese Verfahren meist in einem zentralen Labor durchgeführt werden und damit standardisierte Methoden vorliegen, die an großen Studienkollektiven validiert wurden.

Einer der am häufigsten verwendeten Genexpressionstests ist der Oncotype DX Test, der von der Firma Genomic Health Inc. für Patientinnen mit hormonrezeptorpositiven, nodalnegativen Mammakarzinomen angeboten wird. Es wird die Expression von 21 Genen mittels quantitativer PCR untersucht und das Ergebnis als Punktwert, der sogenannte Recurrence Score (RS), angegeben. 16 der untersuchten Gene stehen in direktem Zusammenhang mit der Tumorbiologie, wie etwa ER-, PR-, HER2- oder Proliferationsgene, die übrigen 5 dienen als Referenz-Gene. Der RS gibt auf einer Skala von 0-100 an,

wie hoch das Risiko eines Rezidives im jeweiligen Einzelfall ist. Damit einhergehend soll er die Entscheidungsfindung bezüglich einer adjuvanten Chemotherapie erleichtern und Patientinnen identifizieren, welche von einer zusätzlichen Chemotherapie profitieren und jene vor einer unnötigen Therapie schützen, denen diese keinen nachweisbaren Nutzen bringt. Klinische Studien konnten zeigen, dass bei Patientinnen mit hohem Risiko ($RS > 30$) häufiger Rezidive auftreten und der Nutzen einer Chemotherapie höher ist als Patientinnen mit geringem Risiko ($RS < 18$).^{49, 50, 51, 52} Bei der Gruppe mittleren Risikos ($RS 18-30$) scheint das Ansprechen auf die Chemotherapie geringer als in der Gruppe mit hohem Risiko zu sein, eine positive Wirkung kann aber nicht ausgeschlossen werden.⁵¹

Albain et al.⁵³ konnten zudem zeigen, dass ebenso wie bei nodalnegativen Patientinnen die Wirksamkeit der adjuvanten Chemotherapie auch bei nodalpositiven Frauen durch den RS vorhergesagt werden kann. Dies bedeutet einen Paradigmenwechsel in Hinblick auf die Indikationsstellung zur Chemotherapie bei den hormonrezeptorpositiven und HER2-negativen Patientinnen: während früher vor allem das Tumorstadium (d.h. Tumorgröße und insbesondere Lymphknotenbefall) wesentlich für die Entscheidungsfindung waren, wird nun mehr und mehr die Tumorbiologie berücksichtigt.

1.4 Tumorzell dissemination

1.4.1 Allgemeines

Die Tatsache, dass es auch nach erfolgreicher Behandlung des Primärtumors und fehlenden Anzeichen einer Tumorerkrankung nach vielen Jahren zu einem erneuten Ausbrechen kommen kann, hat dazu geführt, dass auch der frühe, nicht lymphatisch gestreute Brustkrebs nicht mehr als rein lokale, sondern als systemische Erkrankung angesehen wird. So sterben etwa 30% der

nodalnegativen Patientinnen an den Folgen einer metastasierten Brustkrebserkrankung.⁵⁴

Der Auslöser dieses Phänomens könnten einzelne, im Knochenmark angesiedelte (DTZ) oder im Blut zirkulierende disseminierte Tumorzellen (ZTZ) sein.

Hierbei handelt es sich um eine hämatogene Streuung einzelner Tumorzellen, die bereits in einem sehr frühen, meist klinisch noch okkulten Stadium der Brustkrebserkrankung auftritt und noch vor der lymphogenen Streuung stattfinden kann.⁵⁵ Einzelne Tumorzellen können im Knochenmark bei 20-30 % und im Blut bei 10-20 % der Patientinnen zum Zeitpunkt der Primärdiagnose nachgewiesen werden.^{56, 57, 58, 59}

Nach jahrelanger klinischer Tumorfreiheit und erfolgreich abgeschlossener lokoregionärer Therapie können diese zunächst solitären Zellen proliferieren und sich zu Metastasen entwickeln.^{60, 61, 62} Das Ziel der (adjuvanten) Therapie ist daher nicht nur die restlose Beseitigung des Primärtumors, sondern immer auch der disseminierten Tumorzellen. Die genauen Mechanismen und Faktoren, welche darüber entscheiden, ob disseminierte Tumorzellen zugrunde gehen, im Knochenmark überleben, in einem Ruhezustand bleiben oder aber sich zu klinisch manifesten Metastasen entwickeln, sind noch nicht abschließend geklärt und derzeit Gegenstand der Forschung.

Es hat sich gezeigt, dass DTZ häufiger bei hormonrezeptornegativen Tumoren auftreten. Ihr Nachweis geht mit einer schlechteren Prognose im Vergleich zu Patienten ohne DTZ einher.⁵⁶ Zudem werden nach abgeschlossener Therapie im Knochenmark verbleibende DTZ mit einer Verschlechterung der Prognose in Verbindung gebracht.^{58, 63, 64, 65} Ein positiver Befund im Knochenmark kann daher als eigenständiger, negativer prognostischer Faktor angesehen werden.⁵⁶

1.4.2 Schlafende Tumorzellen

Obwohl ein großer Teil der Brustkrebspatientinnen ZTZ und DTZ im Knochenmark aufweist, bedeutet der Nachweis der selbigen nicht zwangsläufig

ein Wiederkehren der Erkrankung. Etwa die Hälfte aller Patientinnen, bei denen DTZ nachgewiesen werden, bleiben rezidivfrei.⁵⁶ Diese Tatsache legt die Vermutung nahe, dass disseminierte Tumorzellen zu großen Teilen inaktiv sind und werden daher auch als schlafende Tumorzellen („Tumour Dormancy“) bezeichnet. So konnten Meng et al. bei Brustkrebspatientinnen, die für mindestens 7 Jahre nach der Behandlung rezidivfrei geblieben waren, in 36% der Fälle ZTZ nachweisen.⁶⁶ Daher sind die disseminierten Tumorzellen wahrscheinlich auch resistent gegen eine Chemotherapie, die sich ja vor allem gegen proliferierende Zellen richtet.⁶⁷ Wie genau es zu dieser Inaktivität und dem langen Fortbestehen der Zellen kommt, wird derzeit mit unterschiedlichen Modellen erklärt.

Im Modell der „einzelnen schlafenden Tumorzelle“ verweilen die disseminierten Zellen im Knochenmark in der G0-1 Phase, sodass keine Proliferation stattfindet. Passend dazu kann bei diesen Zellen keine bzw. nur eine geringe Expression von Proliferationsmarkern wie etwa Ki-67 nachgewiesen werden.⁶⁸ Im Gegensatz dazu wird das Voranschreiten der Erkrankung im Modell der „schlafenden Mikrometastase“ durch ein Gleichgewicht zwischen Proliferation und Zelltod innerhalb einer Gruppe disseminierter Tumorzellen verhindert. Die Regulierung dieses Geschehens könnte durch bestimmte Faktoren der Mikroumgebung der Zellen stattfinden. So könnte ein Scheitern der Angiogenese dazu führen, dass Mikrometastasen in einen schlafenden Zustand verfallen. Entsprechend würde eine gesteigerte Angiogenese zum Heranwachsen solider Metastasen führen.^{69, 70}

Welches Modell des „Tumorschlafes“ die Realität am besten abbildet wird diskutiert. Eventuell kommen beide Varianten nebeneinander vor. Möglicherweise hängt die Art des „Tumorschlafes“ aber auch mit den Eigenschaften beziehungsweise mit dem intrinsischen Subtyp des Primärtumors zusammen⁷¹. Weniger aggressive, hormonrezeptorpositive Tumoren wären demnach eher dem Modell der „einzelnen schlafenden Tumorzelle“ zuzuordnen, während schlafende Mikrometastasen eher bei aggressiven, hormonrezeptornegativen Tumoren vorkommen könnten.

Generell ist der Kenntnisstand über die Zusammenhänge und die Bedeutung für die Therapie auf dem Themengebiet der Tumorzell dissemination noch unzureichend.

1.5 Fragestellung und Ziel der Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist es, herauszufinden, ob zwischen den einzelnen intrinsischen Tumorsubtypen und anderen Tumorparametern Unterschiede in der Häufigkeit des Vorkommens disseminierter Tumorzellen vorliegen und ob diesen bei den einzelnen Subtypen eine unterschiedliche Bedeutung für Therapie und Prognose beigemessen werden müssen. Außerdem wird der Einfluss der Tumorzell dissemination auf das rezidivfreie sowie auf das Gesamtüberleben untersucht und die einzelnen intrinsischen Subtypen diesbezüglich miteinander verglichen.

Dies könnte helfen, eine präzisere Prognose abgeben zu können und somit Patientinnen zu identifizieren, die von einer zusätzlichen systemischen Therapie profitieren, aber auch unnötige adjuvante Therapiemaßnahmen zu vermeiden.

2 Material und Methoden

2.1 Patientendaten

Den Untersuchungen liegt eine ab dem Jahr 2001 an der Universitäts-Frauenklinik Tübingen geführte Datenbank in Form einer Excel Tabelle zugrunde. In dieser Tabelle werden alle Patientinnen mit primärem Mammakarzinom erfasst, bei denen im Rahmen der operativen Therapie eine Knochenmarkspunktion zur Detektion disseminierter Tumorzellen durchgeführt wird. Die Erfassung in der Tabelle richtet sich nach dem Datum der Entnahme des Knochenmarks. Diese erfolgt jeweils während der ersten Tumoroperation.

Analysiert wurden alle Patientinnen von Januar 2001 bis März 2013, welche den folgenden Ein- und Ausschlusskriterien entsprachen:

Tab. 3: Ein- und Ausschlusskriterien des Patientenkollektivs

Einschlusskriterium	Ausschlusskriterium
OP-Datum zwischen 01/2001 und 02/2015	Primär systemische Therapie
Primäres Mammakarzinom	Rezidiv eines Mammakarzinoms
M0 nach der TNM-Klassifikation zum Zeitpunkt der Diagnose	Nachweis von Fernmetastasen
Vorliegen des Knochenmarkstatus	Keine Information über Knochenmarkstatus
Stadium T1-T4 nach der TNM-Klassifikation	Reines Carcinoma in situ

Fehlende Werte wurden aus den Patientenakten ergänzt, ebenso Informationen zu Ki-67 und zum Recurrence Score, da diese Informationen nicht in der primären Datenbank enthalten waren. Überlebensdaten wie das Auftreten von Rezidiven oder der Tod der Patientinnen wurden aus dem Tumorregister gewonnen und ebenfalls dem Datensatz hinzugefügt.

2.2 Datenauswertung

Nach der Anwendung der oben definierten Ein- und Ausschlusskriterien enthielt die Excel-Tabelle 3.756 Patientinnen.

In Tabelle 4 sind die einzelnen patienten- und tumorspezifischen Parameter des Excel Datensatzes, die in der Untersuchung ausgewertet wurden, aufgelistet.

Tab. 4: Patienten- und tumorspezifische Parameter im Einzelnen

Parameter	Ausprägung	Variable
Name, Vorname, Geburtsdatum		
Datum der OP		Skala
Alter zum Zeitpunkt der OP		Skala
Art der OP	brusterhaltend/nicht brusterhaltend	nominal
Menopausenstatus	prämenopausal/postmenopausal	nominal
Tumorzellnachweis im Knochenmark	positiv/negativ	nominal
Grading	G1, G2, G3	ordinal
Histologie	IDC, ILC, andere	nominal
Tumorstadium	T1, T2, T3, T4	ordinal
Tumorgröße	Durchmesser des größten Tumorherdes der invasiven Komponente	Skala
Lymphknotenstatus	befallen/nicht befallen	nominal
Östrogenrezeptor-Status	positiv (IRS 2-12) / negativ (IRS 0-2)	nominal
Ostrogenrezeptor IRS	0-12	ordinal
Progesteronrezeptor-Status	positiv (IRS 2-12)/ negativ (IRS 0-2)	nominal
Progesteronrezeptor IRS	0-12	ordinal
HER2-Status	positiv (cerbB2 0-2) / negativ (cerbB2 2-3)	nominal
cerbB2-Score	0, 1, 2, 3	ordinal
Chemotherapie	ja/nein	nominal
Hormontherapie	ja/nein	nominal
Bisphosphonate	ja/nein	nominal
Herceptin	ja/nein	nominal
lokales Rezidiv	Datum	Skala
Fernrezidiv	Datum	Skala
Todeszeitpunkt	Datum	Skala
Oncotype DX Recurrence Score	0-100	ordinal
Ki-67 Wert	0-100	ordinal

Tumorsubtyp nach IRS (genaue Kriterien siehe Kapitel 3.3.2)	luminal A, luminal B, HER2-positiv, triple-negativ	nominal
Tumorsubtyp nach Recurrence Score	luminal A, luminal B, HER2-positiv, triple-negativ	nominal
Tumorsubtyp nach Ki-67	luminal A, luminal B, HER2-positiv, triple-negativ	nominal

Alle oben aufgelisteten Daten wurden in einer Microsoft Excel (Version 2010, Microsoft Corporation, Redmond, Washington DC, USA) Tabelle erfasst und für die statistische Auswertung in einem Zahlensystem codiert.

Anschließend wurden die Daten in das Programm PASW Statistics 22 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) übertragen, mit welchem die statistische Auswertung durchgeführt wurde.

Im ersten Teil dieser Arbeit wurden die Daten auf einen signifikanten Zusammenhang zwischen den in Kapitel 3.2 beschriebenen Patienten- oder Tumorparametern und der Häufigkeit von Tumorzell dissemination ins Knochenmark hin untersucht. Es wurden Kontingenztafeln erstellt und der Chi-Quadrat-Test sowie der exakte Fisher-Test durchgeführt, wobei die Niveaus nach Bonferroni adjustiert wurden. Das Signifikanzniveau wurde bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ festgelegt.

Anschließend wurde untersucht, ob ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem intrinsischen Tumorsubtyp und dem Vorkommen von DTZ im Knochenmark nachgewiesen werden kann. Der intrinsische Tumorsubtyp (luminaler Subtyp, HER2 Subtyp, triple-negativer Subtyp) wurde hierbei anhand des Rezeptorstatus (ER-Status, PR-Status und HER2-Status) bestimmt. Die Unterscheidung der beiden luminalen Subtypen (luminal A und B) erfolgte durch drei unterschiedliche Methoden, die jeweils für sich untersucht wurden.

Erstens wurde, wie in Tabelle 5 aufgeführt, die Unterscheidung zwischen luminal A und B anhand des PR IRS Wertes vorgenommen.

Tab. 5: Kriterien zur immunhistochemischen Subtypenbestimmung mittels PR IRS nach St. Gallen Consensus 2013²⁰

Subtyp	Einschlusskriterien
Luminal A	ER-positiv (ER IRS ≥ 3) PR-positiv (PR IRS ≥ 3) HER2-negativ (bei cerbB2-Score 2 Entscheidung durch FISH)
Luminal B	ER-positiv (ER IRS ≥ 3) PR-negativ (PR IRS ≤ 2) HER2-negativ (bei cerbB2-Score 2 Entscheidung durch FISH)
HER2-positiv	HER2-positiv (bei cerbB2-Score 2 Entscheidung durch FISH)
Triple-negativ	ER-negativ (ER IRS ≤ 2) PR-negativ (PR IRS ≤ 2) HER2-negativ (bei cerbB2-Score 2 Entscheidung durch FISH) PR-negativ (PR IRS ≤ 2) HER2-negativ (bei cerbB2-Score 2 Entscheidung durch FISH)

Zweitens wurde der Proliferationsmarker Ki-67 herangezogen, wobei der Cut-off für Ki-67 bei 17,5% angesetzt wurde (Tabelle 6).

Tab. 6: Kriterien zur Subtypenbestimmung mittels Ki-67 nach St. Gallen Consensus 2013²⁰

Subtyp	Einschlusskriterien
Luminal A	ER-positiv (ER IRS ≥ 3) HER2-negativ Ki-67 $\leq 17\%$
Luminal B	ER-positiv (ER IRS ≥ 3) HER2-negativ Ki-67 $\geq 18\%$
HER2-positiv	HER2-positiv (bei cerbB2-Score 2 Entscheidung durch FISH)
Triple-negativ	ER-negativ (ER IRS ≤ 2) PR-negativ (PR IRS ≤ 2) Her2-negativ (bei cerbB2-Score 2 Entscheidung durch FISH)

Drittens wurde bei allen Patientinnen, bei denen ein Oncotype DX-Test durchgeführt wurde, der Recurrence Score als Unterscheidungsmerkmal verwendet (Tabelle 7).

Tab. 7: Kriterien zur Subtypenbestimmung mittels Oncotype RS nach St. Gallen Consensus 2013²⁰

Subtyp	Einschlusskriterien
Luminal A	ER-positiv (ER IRS ≥ 3) HER2-negativ Recurrence Score ≤ 25
Luminal B	ER-positiv (ER IRS ≥ 3) HER2-negativ Recurrence Score ≥ 26
HER2-positiv	HER2-positiv (bei cerbB2-Score 2 Entscheidung durch FISH)
Triple-negativ	ER-negativ (ER IRS ≤ 2) PR-negativ (PR IRS ≤ 2) HER2-negativ (bei cerbB2-Score 2 Entscheidung durch FISH)

Zur statistischen Untersuchung wurden ebenfalls Kontingenztafeln erstellt und der Chi-Quadrat-Test sowie der exakte Fisher-Test durchgeführt.

Die Verlaufsdaten der Erkrankung wurden über einen Zeitraum von 10 Jahren ab der ersten Tumoroperation ausgewertet. Gegebenenfalls wurden Rezidive sowie der Tod der Patientin dokumentiert.

Es wurde untersucht, ob es einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Knochenmarkstatus und dem Auftreten von Rezidiven oder Todesfällen gibt und ob sich die einzelnen Tumorsubtypen diesbezüglich signifikant voneinander unterscheiden. Tabelle 5 zeigt die Kriterien zur Bestimmung der Subtypen.

Folgende Untersuchungen wurden mittels der Kaplan-Meier-Methode durchgeführt:

- im Gesamtkollektiv wurde das Überleben und das rezidivfreie Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status untersucht
- für jeden der vier Subtypen wurde das Überleben sowie das rezidivfreie Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status bestimmt
- Das Auftreten von Rezidiven und Todesfällen innerhalb der einzelnen Subtypen wurde unabhängig vom DTZ-Status miteinander verglichen

2.3 Bestimmung des Knochenmarkstatus

Während der Tumorresektionsoperation wurde bei jeder Patientin eine Knochenmarkpunktion an der Spina iliaca anterior superior durchgeführt. Die Sammelröhrchen enthielten Heparin. Um eine Kontamination des Aspirates mit epithelialen Zellen der Haut zu verhindern, die später zu einem falsch positiven Befund führen würde, wurde die Stelle der Aspiration durch eine Inzision mittels Skalpell eröffnet. Anschließend wurden mit der Jamshidi-Technik etwa 10 bis 20 ml Knochenmark aspiriert, welches unverzüglich innerhalb von 24 Stunden im hauseigenen Labor auf disseminierte Tumorzellen hin untersucht wurde.

Die Untersuchung erfolgte immunzytochemisch mittels Antikörpern gegen Zytokeratine, wie sie in epithelialen Zellen vorkommen. Da im gesunden Knochenmark keine Epithelzellen vorkommen, ist im Falle eines Anfärbens der Nachweis disseminierter epithelialer Zellen erbracht.⁷²

Mononukleäre Zellen wurden durch Dichtegradientenzentrifugation isoliert (Dichte 1,077 g/ml, Biochrom, Deutschland). Anschließend wurden sie auf einen Objektträger zentrifugiert (Hettich Zytocentrifuge, Deutschland) und in 4% Formalin fixiert. Mit dem DAKO Autostainer (Dako, Dänemark) und dem von Mäusen stammenden monoklonalen, gegen Panzytokeratine gerichteten Antikörper A45-B/B3 (Micromet, Deutschland) wurde die Färbung, anschließend mit dem DAKO-APAA detection kit der Nachweis der Tumorzellen durchgeführt. Zur Positivkontrolle diente die Brustkrebs-Zelllinie MCF-7, zur Negativkontrolle von gesunden Probanden stammende Leukozyten. Mit dem ACIS imaging system (ChromaVision; Medical Systems Inc., San Juan Capistrano, Kalifornien, USA) wurden von jeder Patientin zwei Objektträger gescannt. Die Auswertung erfolgte auf Basis der Empfehlungen zum standardisierten Nachweis von Tumorzellen.^{73, 74}

In dieser Untersuchung wurde nur der Nachweis, nicht die Anzahl der nachgewiesenen zytokeratinpositiven Zellen ausgewertet.

3 Ergebnisse

3.1 Übersicht über das Patientenkollektiv

Tabelle 8 zeigt eine Übersicht über die einzelnen Patientenparameter und deren Häufigkeit im Kollektiv.

Tab. 8: Übersicht der Patientencharakteristika

Parameter	Gesamtzahl (%)
Gesamt	3756 (100)
Menopausenstatus	
prämenopausal	1399 (37,2)
postmenopausal	2348 (62,5)
Angabe fehlt	9 (0,3)
Histologie	
IDC	2731 (72,7)
ILC	725 (19,3)
Andere	210 (5,6)
Angabe fehlt	90 (2,4)
Grading	
G1	476 (12,7)
G2	2522 (67,1)
G3	702 (18,7)
Angabe fehlt	56 (1,5)
T-Stadium	
T0	2
T1	2563 (68,2)
T2	1057 (28,2)
T3	98 (2,6)
T4	36 (1)
Angabe fehlt	0 (0)
Lymphknotenstatus	
N0	2641 (70,3)
N1	1105 (29,4)
Angabe fehlt	10 (0,3)

ER-Status positiv negativ Angabe fehlt	3146 (83,8) 610 (16,2) 0 (0)
PR-Status positiv negativ Angabe fehlt	2625 (69,9) 1128 (30) 3 (0,1)
HER2-Status positiv negativ Angabe fehlt	434 (11,6) 3312 (88,2) 10 (0,2)
Chemotherapie ja nein Angabe fehlt	1735 (46,2) 2011 (53,6) 10 (0,2)
Hormontherapie ja nein Angabe fehlt	3044 (81) 704 (18,8) 8 (0,2)
Bisphosphonate ja nein Angabe fehlt	1102 (29,3) 2612 (69,5) 42 (1,2)
Herceptin ja nein Angabe fehlt	211 (5,6) 2952 (78,6) 594 (15,8)

Abbildung 3 zeigt die Altersverteilung im Patientenkollektiv:

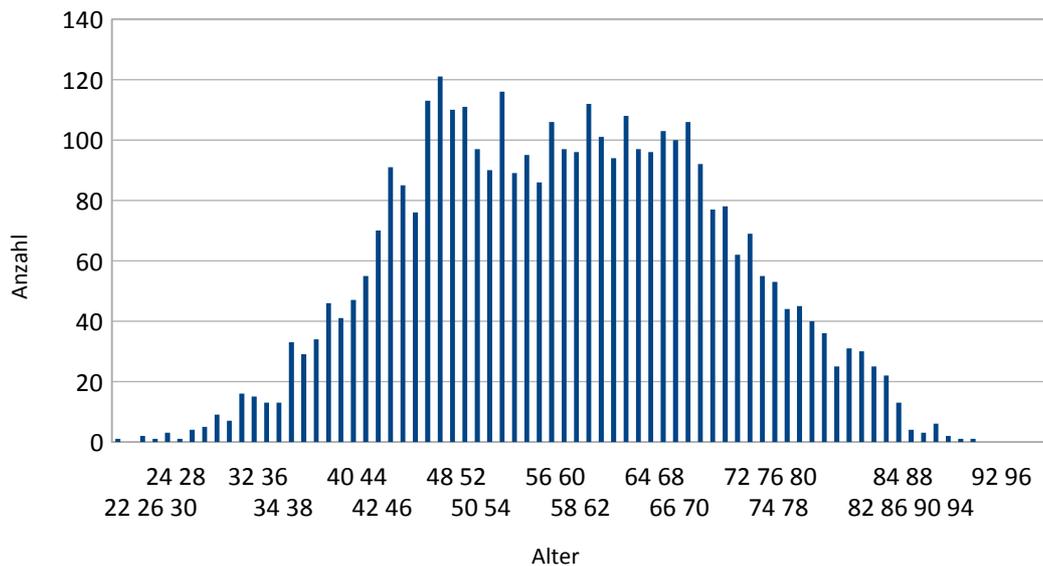


Abb. 3: Altersverteilung der Patientinnen

Das durchschnittliche Alter der Patientinnen im gesamten Kollektiv lag bei 58,1 Jahren. Dies entspricht nicht exakt dem Alter bei der Diagnosestellung, da es sich beim angegebenen Wert um den Zeitpunkt der OP handelt.

Die jüngste Patientin in diesem Kollektiv war 22 Jahre, die älteste 97 Jahre alt.

Die Patientinnen mit positivem DTZ-Befund im Knochenmark waren im Durchschnitt 59,0 Jahre alt. Die jüngste Patientin aus dieser Gruppe war 26, die älteste 90 Jahre alt.

Bei der DTZ-negativen Gruppe lag der Altersdurchschnitt bei 57,8 Jahren, wobei die jüngste Patientin 22 Jahre alt war, die älteste 97.

3.2 klinische Parameter vs. DTZ-Status

Der folgende Abschnitt zeigt eine Übersicht über die Patientencharakteristik zum Zeitpunkt der Diagnose bzw. der Operation sowie den Anteil von DTZ-positiven Patientinnen in Abhängigkeit von einzelnen patienten- und tumorspezifischen Parametern.

3.2.1 Menopausenstatus vs. DTZ-Status

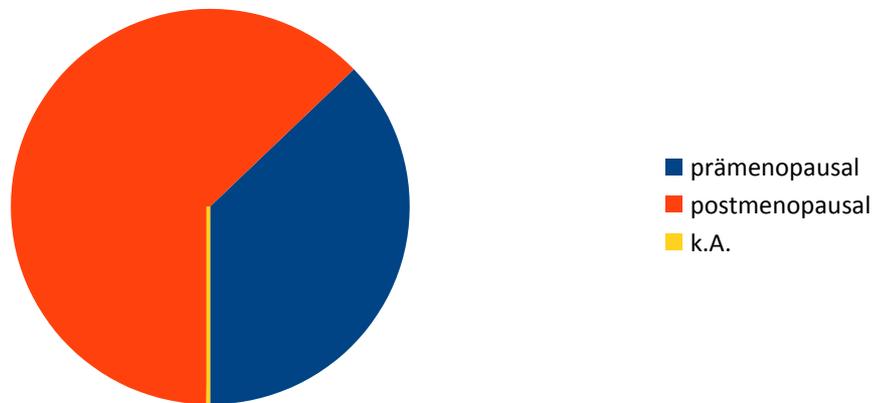


Abb. 4: Menopausenstatus im untersuchten Kollektiv

37,2% der Patientinnen waren zum Zeitpunkt der Diagnose prämenopausal, 62,5% postmenopausal und bei 0,3% fehlte die Angabe oder es handelte sich um männliche Patienten.

Tab. 9: DTZ-Status in Abhängigkeit vom Menopausenstatus

Menopausenstatus	Gesamtzahl (%)	DTZ-Positive (%)	p-Wert
prämenopausal	1399 (37,2)	321 (22,9)	0,671
postmenopausal	2348 (62,5)	553 (23,6)	
Angabe fehlt	9 (0,3)	1 (11,1)	

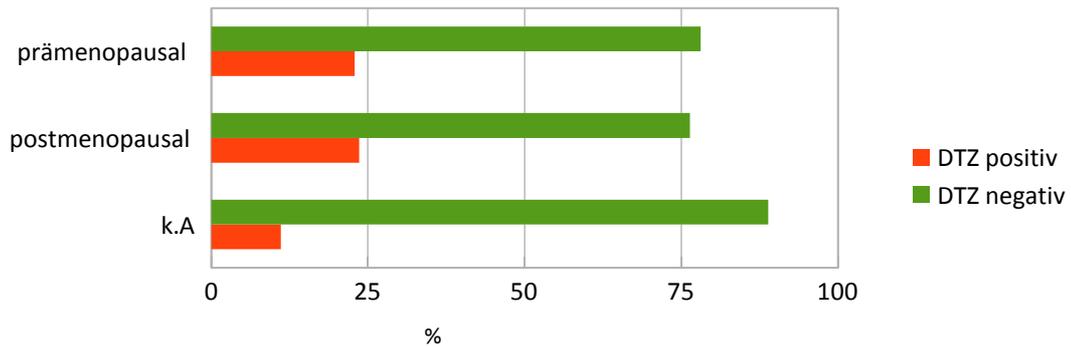


Abb. 5: DTZ-Status in Abhängigkeit vom Menopausenstatus

Bei den prämenopausalen Patientinnen waren in 22,9% der Fälle DTZ zu finden, bei den postmenopausalen in 23,6% der Fälle. Bei den 9 Patienten mit fehlender Angabe zum Menopausenstatus kamen bei einem (11,1%) DTZ im Knochenmark vor.

Bei einem p-Wert von 0,671 ergibt sich keine signifikante Korrelation zwischen dem Menopausenstatus und dem DTZ-Status.

3.2.2 Histologie vs. DTZ-Status

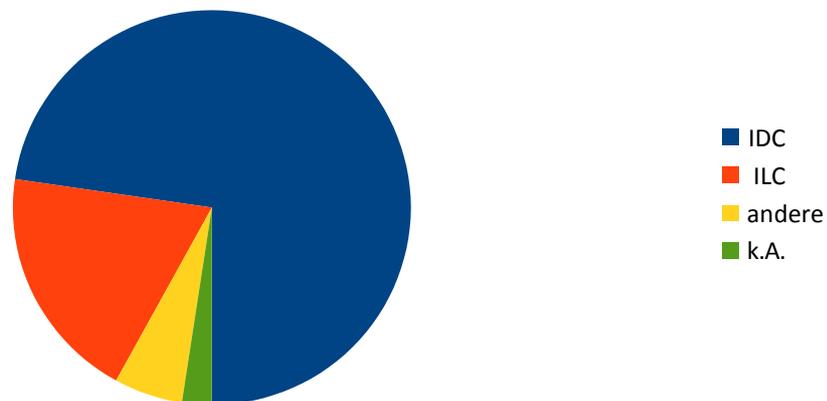


Abb. 6: Häufigkeit der histologischen Subtypen

Im Gesamtkollektiv lagen in 72,7% der Fälle invasiv duktales Karzinome (IDC) vor, in 19,3% invasiv lobuläre Karzinome (ILC), in 5,6% lag ein anderes

Karzinom vor und bei 2,4% der Patientinnen fehlt die Angabe zum histologischen Typ.

Tab. 10: DTZ-Status in Abhängigkeit vom histologischen Tumorsubtyp

Histologie	Gesamtzahl (%)	DTZ-Positive (%)	p-Wert
IDC	2731 (72,7)	619 (22,7)	0,026
ILC	725 (19,3)	199 (27,4)	
Andere	210 (5,6)	48 (22,9)	
Angabe fehlt	90 (2,4)	8 (8,9)	

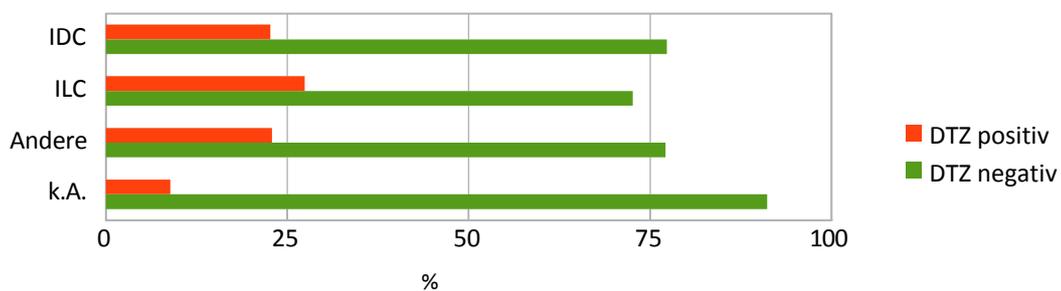


Abb. 7: DTZ-Status in Abhängigkeit vom histologischen Tumorsubtyp

Daraus zeigte sich, dass bei den Patientinnen mit ILC häufiger als bei allen anderen histologischen Typen DTZ im Knochenmark nachweisbar waren. Dies war hier in 27,4% der Fälle, während nur bei 22,7% der Patientinnen mit IDC Tumoren und bei 22,9% der Fälle mit anderen Tumoren DTZ nachweisbar waren.

Es besteht daher eine signifikante Korrelation zwischen der Histologie des Tumors und dem DTZ-Status ($p=0,026$)

3.2.3 Grading vs. DTZ-Status

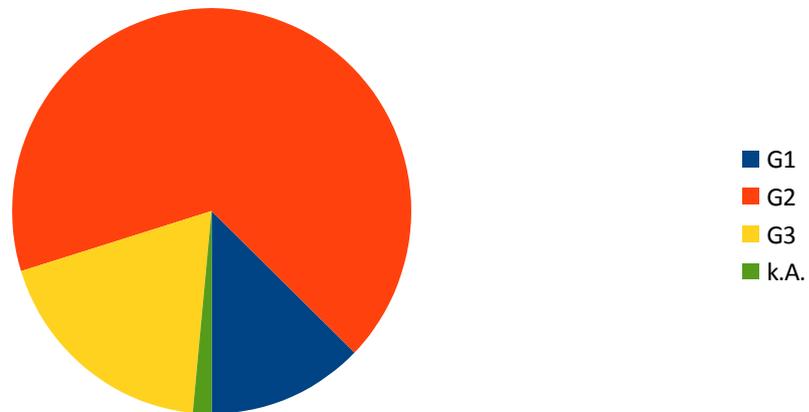


Abb. 8: Grading der Patientinnen

Die Mehrheit der Patientinnen (67,1%) litt unter einem Karzinom mit dem Differenzierungsgrad G2, G1 kam in 12,7%, G3 in 18,7% der Fälle vor. Bei 1,5% der Patientinnen fehlte diese Angabe.

Tab. 11: DTZ-Status in Abhängigkeit vom Grading

Grading	Gesamtzahl (%)	DTZ-Positive (%)	p-Wert
G1	476 (12,7)	91 (19,1)	0,075
G2	2522 (67,1)	599 (23,8)	
G3	702 (18,7)	169 (24,1)	
Angabe fehlt	56 (1,5)	16 (28,6)	

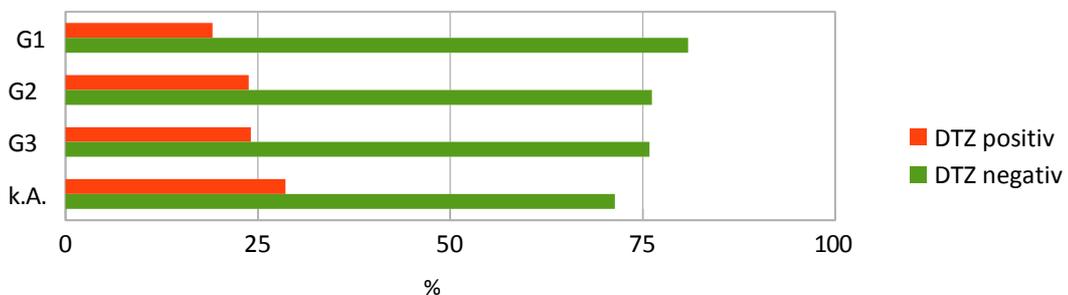


Abb. 9: DTZ-Status in Abhängigkeit vom Grading

Hier fällt auf, dass mit sinkender Differenzierung der Anteil der DTZ-Befunde zunimmt. Der Nachweis konnte bei 19,1% der G1-Patientinnen erbracht werden, bei Patientinnen mit G2-Tumoren in 23,8% und bei G3-Tumoren in 24,1% der Fälle.

Eine statistisch signifikante Korrelation dieser beiden Werte liegt nicht vor ($p=0,075$).

3.2.4 T-Stadium vs. DTZ-Status

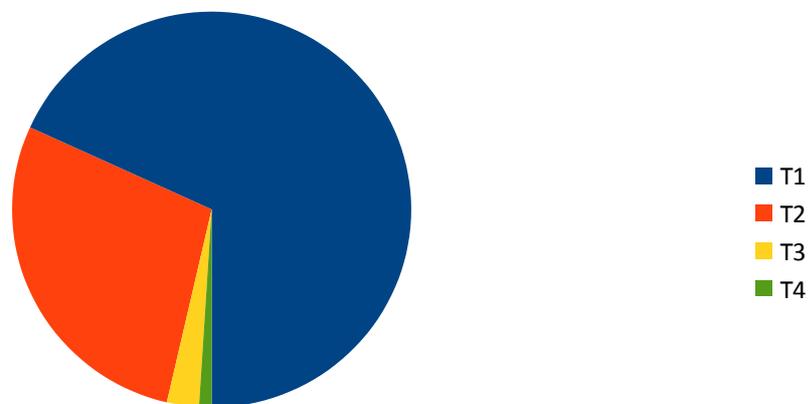


Abb. 10: Häufigkeit der Tumorstadien

Hier fallen sinkende Fallzahlen mit steigendem T-Stadium auf. So wurde bei 68,2% Prozent der Patientinnen durch die Histologie nach der OP die Diagnose T1 gestellt, bei 28,2% T2, bei 2,6% T3 und bei 1% T4.

Tab. 12: DTZ-Status in Abhängigkeit vom Tumorstadium

T-Stadium	Gesamtzahl (%)	DTZ-Positive (%)	p-Wert
T0	2	2 (100)	<0,001
T1	2563 (68,2)	559 (21,8)	
T2	1057 (28,2)	270 (25,5)	
T3	98 (2,6)	33 (33,7)	
T4	36 (1)	11 (30,6)	
Angabe fehlt	0 (0)		

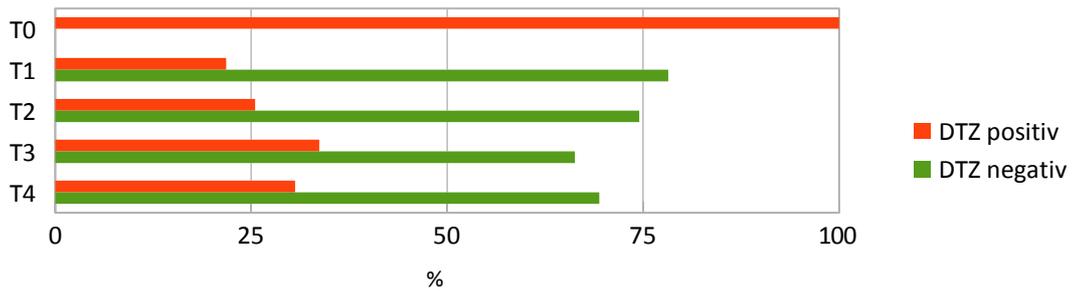


Abb. 11: DTZ-Status in Abhängigkeit vom Tumorstadium

Der Anteil der Patientinnen mit positivem DTZ-Status stieg mit dem T-Stadium an.

Bei Patientinnen mit T1 Karzinom kamen in 21,8% der Fälle DTZ vor, bei den T2 Patientinnen bei 25,5% und bei T3 Fällen bei 33,7%. Bei den Patientinnen mit T4 Tumoren waren in 30,6% der Fälle DTZ nachweisbar. Allerdings liegen die Fallzahlen insgesamt in dieser Gruppe deutlich niedriger.

Bei einem p-Wert von $<0,001$ liegt hier ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem T-Stadium und dem DTZ-Status vor.

3.2.5 Lymphknotenstatus vs. DTZ-Status

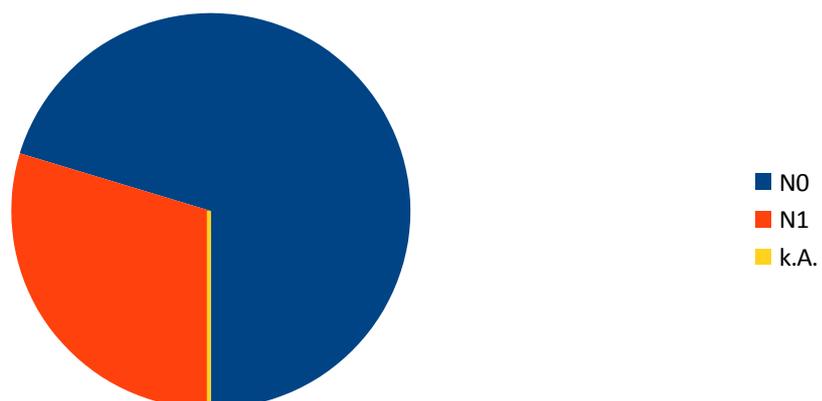


Abb. 12: Häufigkeitsverteilung des Lymphknotenstatus

In der Mehrheit der Fälle (70,3%) konnten keine Lymphknotenmetastasen entdeckt werden, weder vor der OP noch durch die Histologie danach. Bei 29,4% der Patientinnen lag allerdings mindestens eine Lymphknotenmetastase vor.

Tab. 13: DTZ-Status in Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus

Lymphknotenstatus	Gesamtzahl (%)	DTZ-Positive (%)	p-Wert
N0	2641 (70,3)	600 (22,7)	0,170
N1	1105 (29,4)	274 (24,8)	
Angabe fehlt	10 (0,3)	1 (10)	

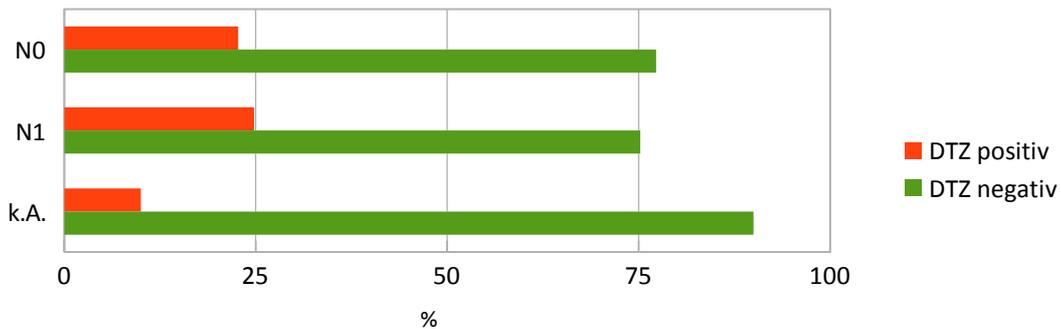


Abb. 13: DTZ-Status in Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus

Bei den Patientinnen ohne pathologischen Befund der Lymphknoten waren in 22,7% der Fälle DTZ nachweisbar, bei Patientinnen mit Metastasen der Lymphknoten in 24,8% der Fälle.

Statistisch kann eine signifikante Korrelation zwischen Lymphknoten- und DTZ-Status nicht bestätigt werden ($p=0,170$).

3.2.6 ER-Status vs. DTZ-Status

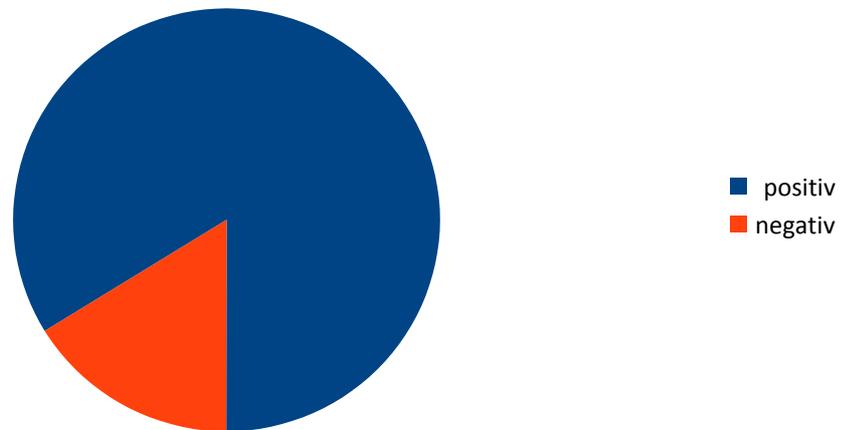


Abb. 14: Östrogenrezeptorstatus im untersuchten Kollektiv

83,8% der Patientinnen waren östrogenrezeptorpositiv, das heißt der ER IRS lag bei 3 oder größer. In 16,2% der Fälle betrug der ER IRS 2 oder kleiner.

Tab. 14: DTZ-Status in Abhängigkeit vom ER-Status

ER-Status	Gesamtzahl (%)	DTZ-Positive (%)	p-Wert
positiv	3146 (83,8)	723 (23)	0,300
negativ	610 (16,2)	152 (24,9)	
Angabe fehlt	0 (0)		

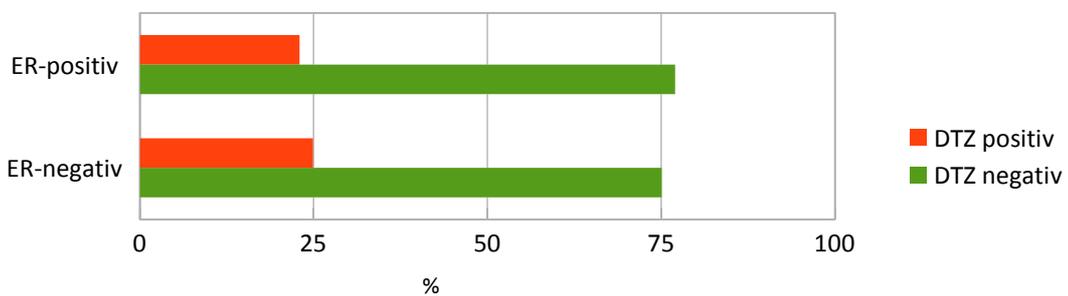


Abb. 15: DTZ-Status in Abhängigkeit vom ER-Status

Die Patientinnen mit positivem ER-Status wiesen in 23% der Fälle DTZ im Knochenmark auf, die Patientinnen mit negativem ER-Status in 24,9% der Fälle.

Bei einem p-Wert von 0,300 scheint kein signifikanter Zusammenhang dieser beiden Parameter zu bestehen.

3.2.7 PR-Status vs. DTZ-Status

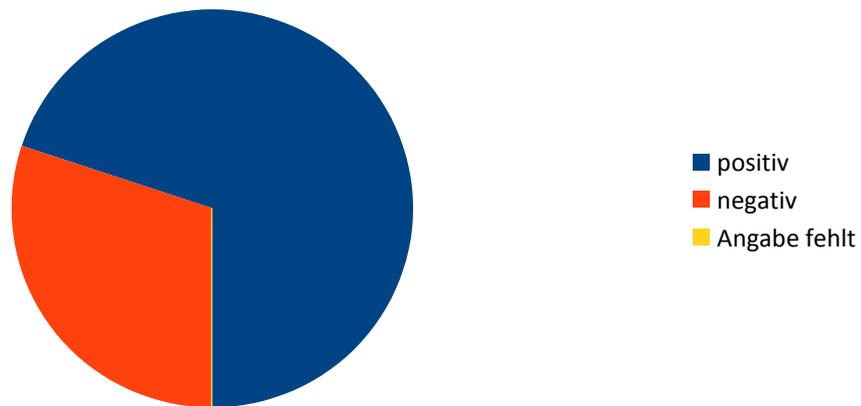


Abb. 16: Progesteronrezeptorstatus im untersuchten Kollektiv

Beim PR-Status verhält es sich ähnlich wie beim ER-Status. Die Mehrheit von 69,9% ist gekennzeichnet durch einen PR IRS von 3 oder größer, bei 30% liegt ein IRS von 2 oder kleiner vor und bei 0,1% der Patientinnen fehlt die Angabe.

Tab. 15: DTZ-Status in Abhängigkeit vom PR-Status

PR-Status	Gesamtzahl (%)	DTZ-Positive (%)	p-Wert
positiv	2625 (69,9)	579 (22,1)	0,006
negativ	1128 (30)	295 (26,2)	
Angabe fehlt	3 (0,1)	1 (33,3)	

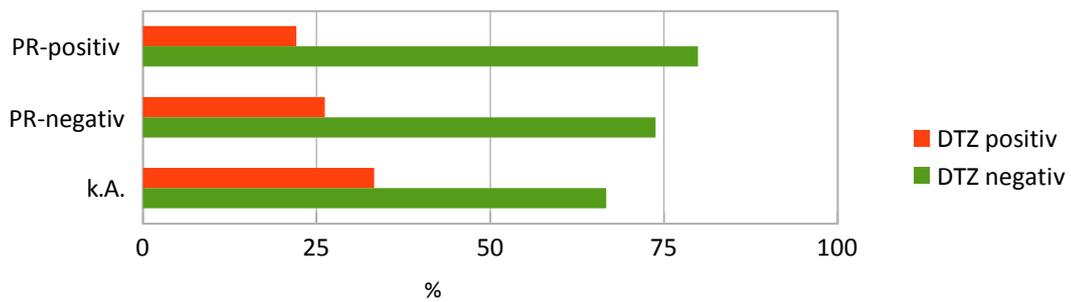


Abb. 17: DTZ-Status in Abhängigkeit vom PR-Status

Auch hier fällt auf, dass die Patientinnen mit positivem PR-Status seltener (22,1%) DTZ im Knochenmark aufweisen als solche mit negativem PR-Status (26,2%).

Dieser signifikante Zusammenhang kann statistisch bestätigt werden ($p=0,006$).

3.2.8 HER2-Status vs. DTZ-Status

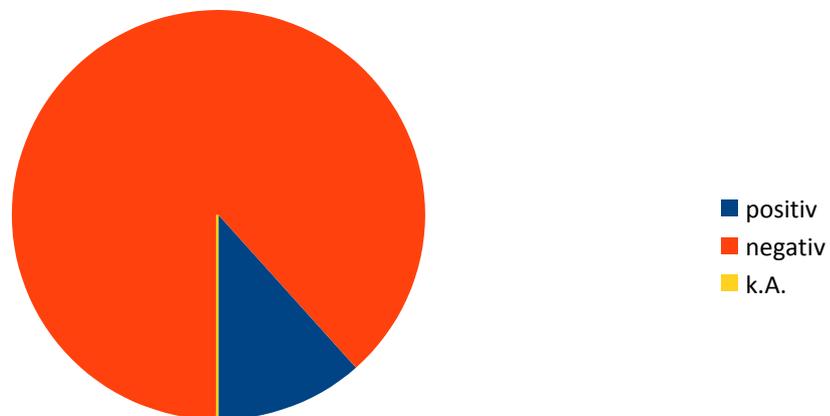


Abb. 18: HER2-Status im untersuchten Kollektiv

Bei der überwiegenden Mehrheit mit 88,2% der Fälle war der HER2-Rezeptor nicht amplifiziert, in 11,6% war dies der Fall. Bei insgesamt 10 Patientinnen (0,2%) fehlt die Angabe zum HER2-Status.

Tab. 16: DTZ-Status in Abhängigkeit vom HER2-Status

HER2-Status	Gesamtzahl (%)	DTZ-Positive (%)	p-Wert
positiv	434 (11,6)	121 (27,9)	0,015
negativ	3312 (88,2)	750 (22,6)	
Angabe fehlt	10 (0,2)	4 (40)	

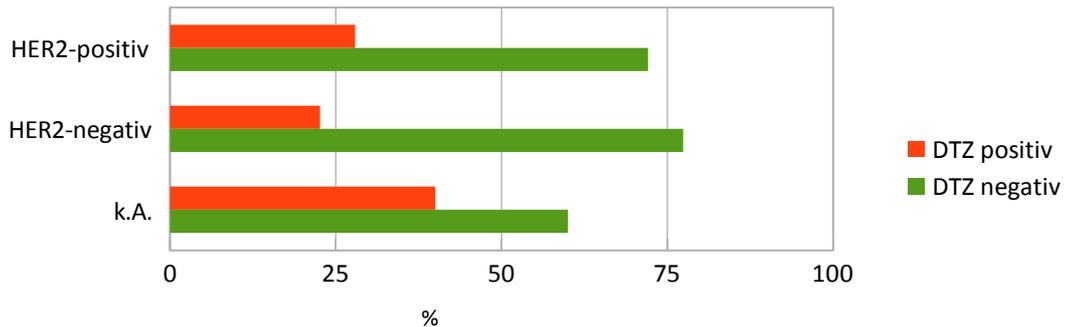


Abb. 19: DTZ-Status in Abhängigkeit vom HER2-Status

Die Patientinnen mit positivem HER2-Status wiesen in 27,9% der Fälle DTZ im Knochenmark auf, damit deutlich häufiger als Patientinnen mit negativem HER2-Status (22,6%). Bei den 10 Patientinnen mit fehlendem HER2-Status waren in 40% der Fälle DTZ nachweisbar, allerdings ist dies aufgrund der geringen Fallzahlen kaum relevant.

Die statistische Korrelation zwischen HER2- und DTZ-Status ist signifikant ($p=0,015$).

3.2.9 Chemotherapie vs. DTZ-Status

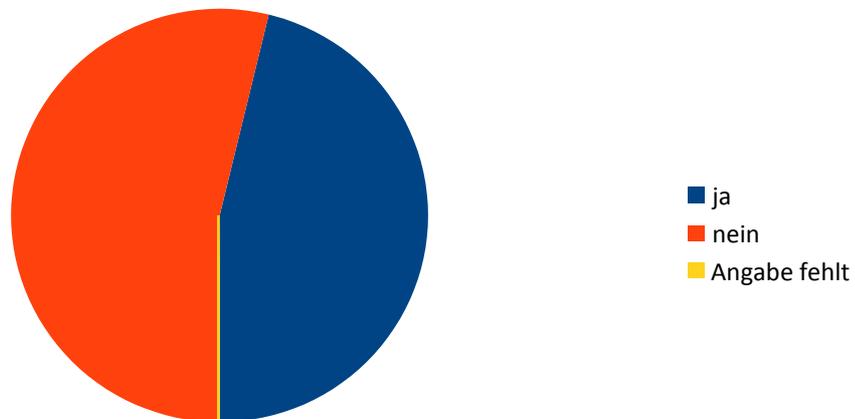


Abb. 20: Häufigkeit einer Chemotherapie

Eine adjuvante Chemotherapie wurde in 46,2% der Fälle in diesem Patientenkollektiv durchgeführt, 53,6% erhielten dagegen keine Chemotherapie. Bei 10 Patientinnen fehlt diese Information.

Tab. 17: DTZ-Status in Abhängigkeit von der Durchführung einer Chemotherapie

Chemotherapie	Gesamtzahl (%)	DTZ-Positive (%)	p-Wert
ja	1735 (46,2)	432 (24,9)	0,014
nein	2011 (53,6)	438 (21,8)	
Angabe fehlt	10 (0,2)	5 (50)	

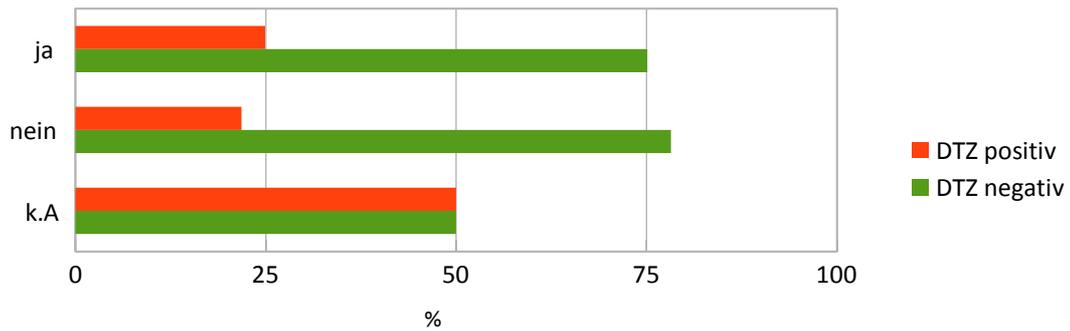


Abb. 21: DTZ-Status in Abhängigkeit von der Durchführung einer Chemotherapie

Von den Patientinnen, die eine Chemotherapie erhalten haben, wiesen 24,9% DTZ auf, in der Gruppe ohne waren es nur 21,8%.

Es besteht ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer Chemotherapie und dem DTZ-Status ($p=0,014$).

3.2.10 Hormontherapie vs. DTZ-Status

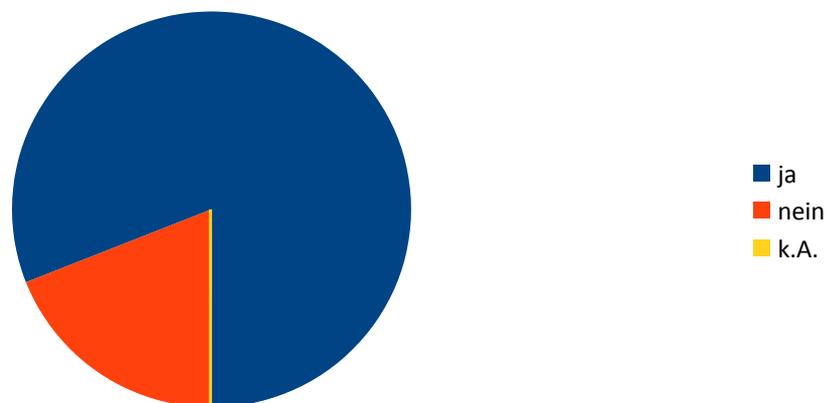


Abb. 22: Häufigkeit einer Hormontherapie

Mit 81% erhielt eine große Mehrheit der Patientinnen eine Hormontherapie. Lediglich 18,8% erhielten keine Hormontherapie, bei den übrigen 0,2% fehlt die Information.

Tab. 18: DTZ-Status in Abhängigkeit von der Durchführung einer Hormontherapie

Hormontherapie	Gesamtzahl (%)	DTZ-Positive (%)	p-Wert
ja	3044 (81)	672 (22,1)	0,001
nein	704 (18,8)	198 (28,1)	
Angabe fehlt	8 (0,2)	5 (62,5)	

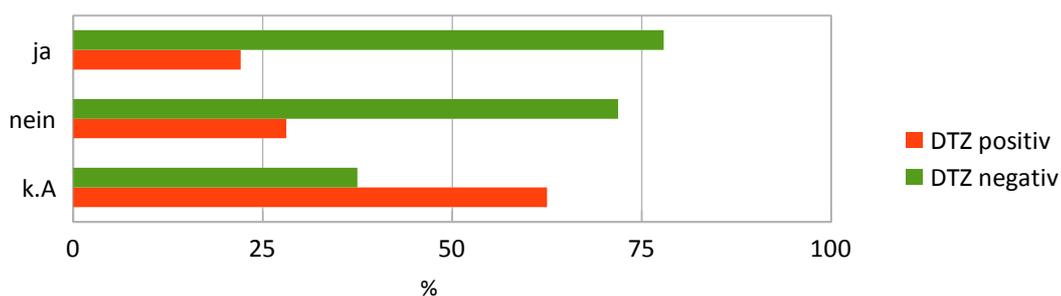


Abb. 23: DTZ Status in Abhängigkeit von der Durchführung einer Hormontherapie

Die Patientinnen, die eine Hormontherapie erhielten, waren wesentlich seltener (22,1%) von DTZ betroffen als die Patientinnen ohne Hormontherapie (28,1%). Ein signifikanter Zusammenhang dieser Variablen kann bei einem p-Wert von 0,001 bestätigt werden.

3.2.11 Bisphosphonate vs. DTZ-Status

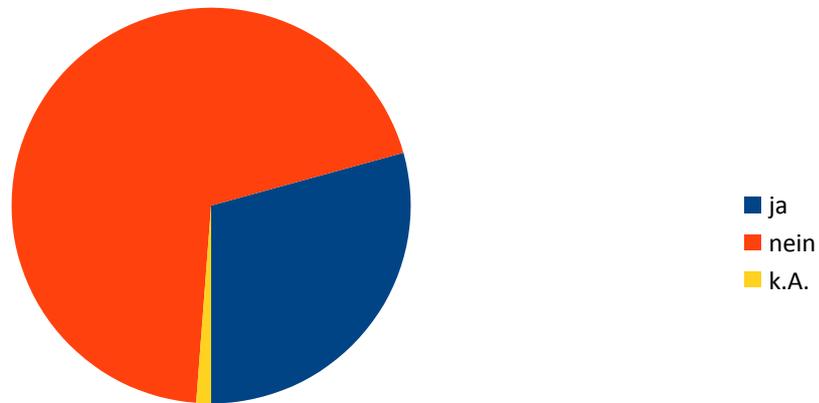


Abb. 24: Häufigkeit einer Bisphosphonattherapie

29,3% der Patientinnen aus dem Kollektiv erhielten im Verlauf der Therapie Bisphosphonate, 69,5% erhielten keine und bei 1,2% fehlt die Information.

Tab. 19: DTZ-Status in Abhängigkeit von der Durchführung einer Bisphosphonattherapie

Bisphosphonate	Gesamtzahl (%)	DTZ-Positive (%)	p-Wert
ja	1102 (29,3)	391 (35,5)	<0,001
nein	2612 (69,5)	465 (17,8)	
Angabe fehlt	42 (1,2)	19 (45,2)	

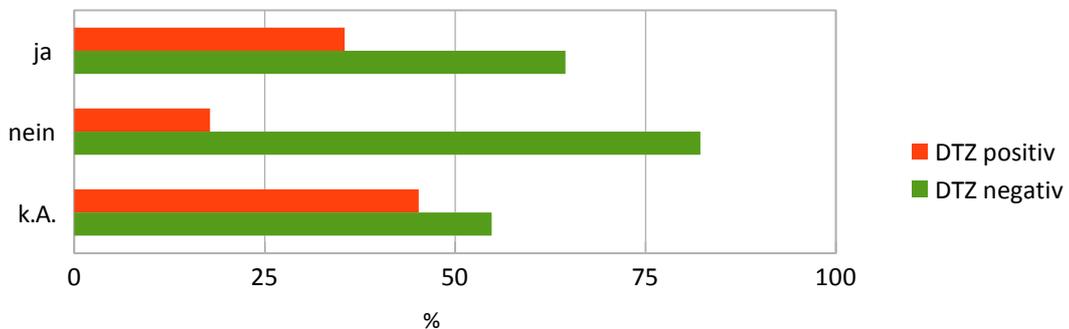


Abb. 25: DTZ-Status in Abhängigkeit von der Durchführung einer Bisphosphonattherapie

In der Patientengruppe, die Bisphosphonate erhielt, konnten in 35,5% der Fälle DTZ nachgewiesen werden, bei den Patientinnen ohne Bisphosphonattherapie waren es 17,8%.

Bei $p < 0,001$ ergibt sich eine signifikante Korrelation zwischen einer Bisphosphonattherapie und dem DTZ-Status.

3.2.12 Herceptin vs. DTZ-Status

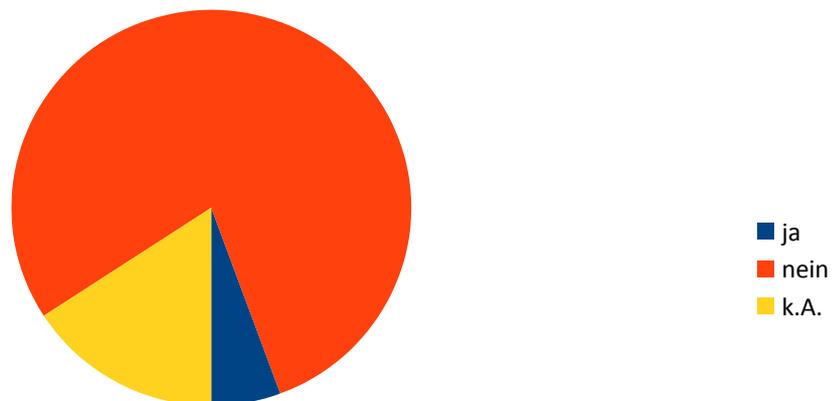


Abb. 26: Häufigkeit einer Therapie mit Herceptin

Die Datenbank war in dieser Kategorie leider relativ unvollständig, es fehlen bei 15,8% aller Patientinnen die Information über eine Therapie mit Herceptin.

Bei insgesamt 5,6% wurde die Durchführung einer solchen Therapie dokumentiert, 78,6% erhielten kein Herceptin.

Tab. 20: DTZ-Status in Abhängigkeit von der Durchführung einer Herceptintherapie

Herceptin	Gesamtzahl (%)	DTZ-Positive (%)	p-Wert
ja	211 (5,6)	47 (22,3)	0,537
nein	2952 (78,6)	605 (20,5)	
Angabe fehlt	594 (15,8)	225 (37,9)	

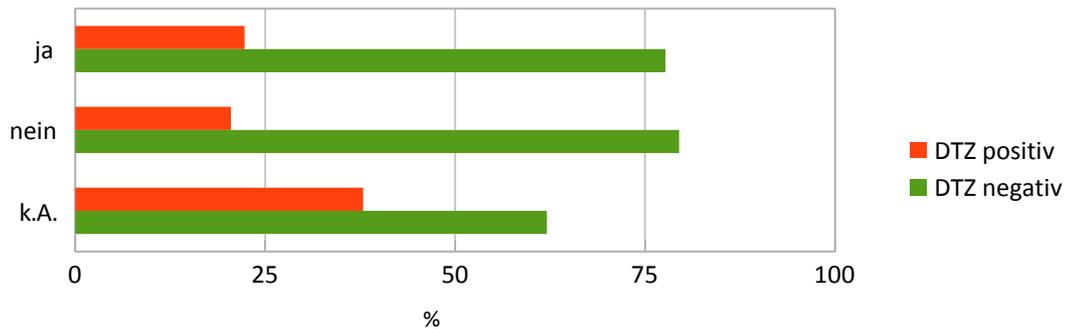


Abb. 27: DTZ-Status in Abhängigkeit von der Durchführung einer Herceptintherapie

Von den Patientinnen, die Herceptin erhielten, waren 22,3% DTZ-positiv, bei den Patientinnen, die kein Herceptin erhielten, waren es 20,5%.

Bei den 15,8% der Patientinnen, bei denen die Information fehlt, waren zu 37,9% DTZ nachweisbar.

Ein signifikanter Zusammenhang lässt sich hier nicht nachweisen ($p=0,537$).

3.3 Tumorsubtyp vs. DTZ-Status

Dieses Kapitel zeigt den Anteil der Patientinnen mit erbrachtem Tumorzellnachweis im Knochenmark in Abhängigkeit vom intrinsischen Subtyp des Mammakarzinoms. Die Unterscheidung zwischen luminal A und B erfolgte in den drei folgenden Abschnitten nach jeweils unterschiedlichen Kriterien.

3.3.1 Unterscheidung nach PR IRS

Im diesem Abschnitt erfolgte die Einteilung der Subtypen anhand des PR IRS Wertes.

3.686 der insgesamt 3.756 Patientinnen (98,1%) konnten in diese Untersuchung eingehen, in 70 Fällen fehlt die Angabe des PR IRS Wertes.

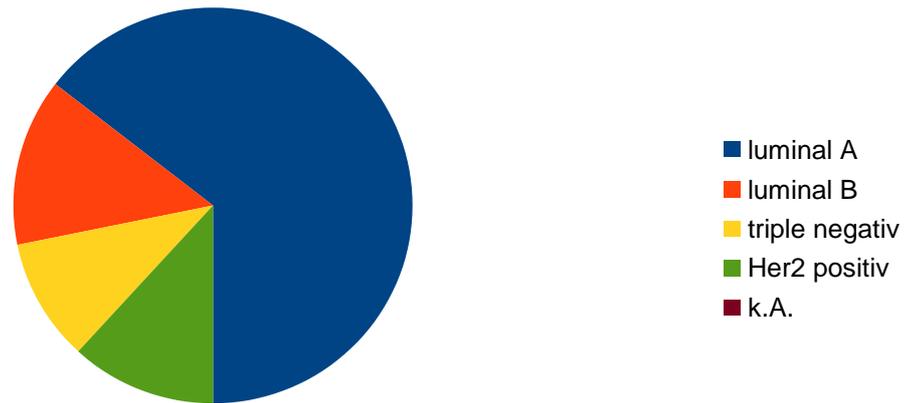


Abb. 28: Anteile der einzelnen Subtypen nach PR IRS

Luminal A war der häufigste Subtyp und kam in 64,5% aller Fälle vor. Die mit 13,7% zweitgrößte Gruppe bilden die Patientinnen mit luminal B Tumoren. In 11,8 % der Fälle lagen HER2-positive Tumoren vor, die kleinste Gruppe bilden mit 10 % die Patientinnen mit triple-negativem Tumorsubtyp.

Tab. 21: DTZ-Status in Abhängigkeit vom molekularen Tumorsubtyp nach PR IRS

	Gesamtzahl (%)	DTZ-Positive (%)	p-Wert
gesamt	3686	858 (23,3)	
Molekularer Subtyp nach PR IRS			
Luminal A	2376 (64,5)	520 (21,9)	0,028
Luminal B	507 (13,7)	129 (25,4)	
HER2-positiv	434 (11,8)	121 (27,9)	
triple-negativ	369 (10)	88 (23,8)	

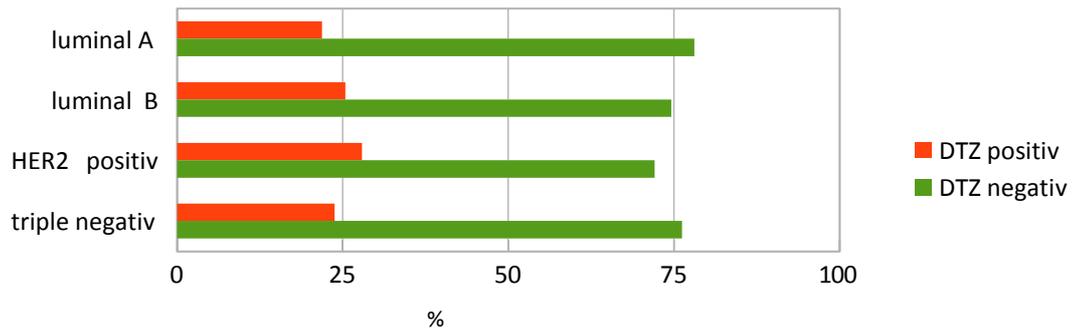


Abb. 29: DTZ-Status in Abhängigkeit vom molekularen Tumorsubtyp nach PR IRS

In der Gruppe luminal A war der Anteil der DTZ-positiven mit 21,9 % am geringsten von allen Subtypen. In der luminal B Gruppe konnten bei 25,4 % und damit deutlich häufiger als in der luminal A Gruppe DTZ im Knochenmark nachgewiesen werden.

Bei triple-negativem Tumorsubtyp wurden in 23,8 % der Fälle DTZ im Knochenmark nachgewiesen.

Unter den Patientinnen mit HER2-positiven Tumoren war die Inzidenz positiver DTZ-Befunde mit 27,9 % am größten von allen Subtypen.

Bei $p=0,028$ besteht eine signifikante Korrelation zwischen dem Tumorsubtyp und dem DTZ-Status.

3.3.2 Unterscheidung nach Oncotype Recurrence Score

In diesem Teil der Untersuchung wurden die Daten von 44 Patientinnen ausgewertet, bei denen Informationen zum Recurrence Score vorlagen.

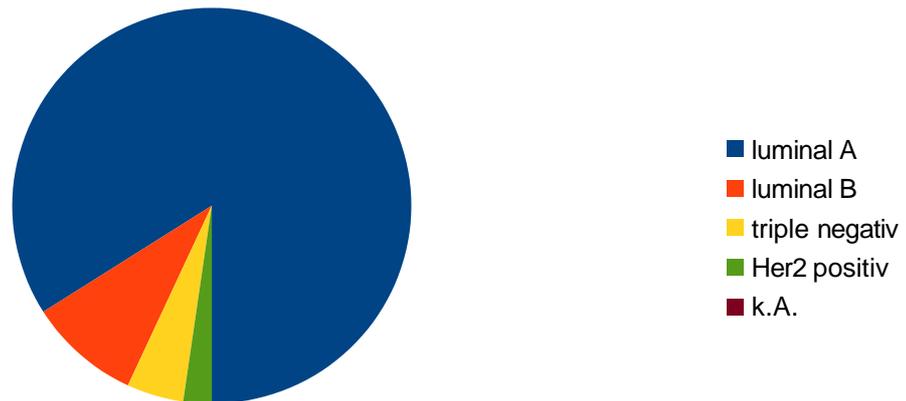


Abb. 30: Anteile der einzelnen Subtypen nach Oncotype RS

Auch in dieser Einteilung war die Gruppe luminal A zahlenmäßig am größten. 84% aller Patientinnen gehörten ihr an, 9,1% der Gruppe luminal B, 2,3% der Gruppe HER2-positiv und in 4,6% der Fälle lag ein triple-negativer Subtyp vor.

Tab. 22: DTZ-Status in Abhängigkeit vom molekularen Tumorsubtyp nach Oncotype RS

	Gesamtanzahl (%)	DTZ-Positive (%)	p-Wert
gesamt	44	2 (4,5)	
Molekularer Subtyp nach RS			
Luminal A	37 (84)	1 (2,7)	0,232
Luminal B	4 (9,1)	1 (25)	
HER2-positiv	1 (2,3)	0 (0)	
Triple-negativ	2 (4,6)	0 (0)	

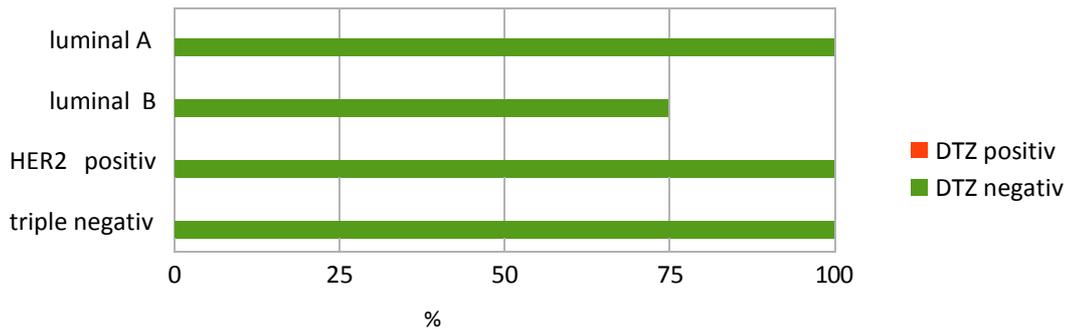


Abb. 31: DTZ-Status in Abhängigkeit vom molekularen Tumorsubtyp nach Oncotype RS

In der luminal B Gruppe konnten deutlich häufiger (25%) DTZ im Knochenmark nachgewiesen werden als in der luminal A Gruppe (2,7%). Bei den Patientinnen der anderen beiden Subtypen lag kein Fall mit Tumorzellnachweis im Knochenmark vor.

Ein signifikanter Unterschied bezüglich des DTZ-Status kann in dieser relativ kleinen Gruppe nicht nachgewiesen werden ($p=0,232$).

3.3.3 Unterscheidung nach Ki-67

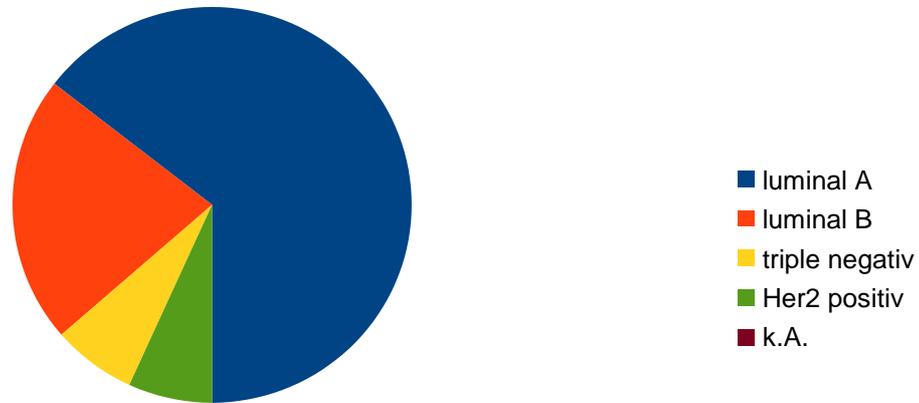


Abb. 32: Anteile der Subtypen nach Ki-67

Diese Teiluntersuchung wurde an 73 Patientinnen durchgeführt, bei denen der Ki-67 Wert im resezierten Tumorgewebe bestimmt worden war.

Luminal A bildete mit 64,5% die größte Gruppe, gefolgt von luminal B mit 21,9%. HER2-positiv und triple-negativ waren jeweils in 6,8% der Fälle vertreten.

Tab. 23: DTZ-Status in Abhängigkeit vom molekularen Tumorsubtyp nach Ki-67

	Gesamtzahl (%)	DTZ-Positive (%)	p-Wert
gesamt	73	7 (9,6)	
Molekularer Subtyp nach Ki-67			
Luminal A	47 (64,5)	3 (6,4)	0,087
Luminal B	16 (21,9)	2 (12,5)	
HER2-positiv	5 (6,8)	2 (40)	
Triple-negativ	5 (6,8)	0 (0)	

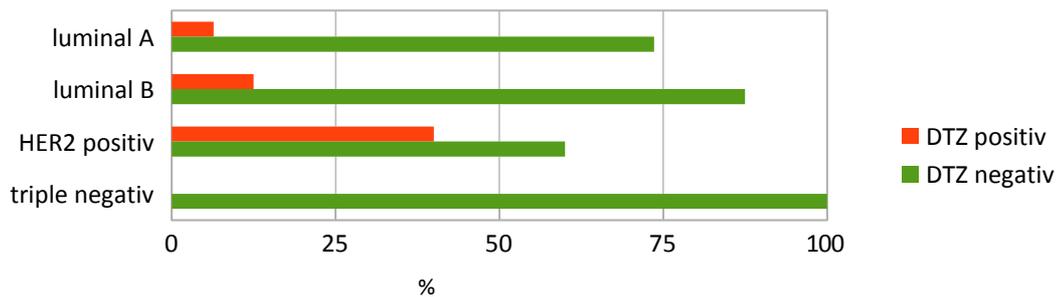


Abb. 33: DTZ-Status in Abhängigkeit vom molekularen Tumorsubtyp nach Ki-67

In der luminal A Gruppe waren in 6,4% DTZ nachweisbar, während dies bei 12,5% der luminal B Patientinnen der Fall war. Damit traten sie in dieser Gruppe etwa doppelt so häufig auf wie beim Subtyp luminal A. Bei 2 der 5 HER2-positiven Patientinnen traten DTZ auf, wodurch sich ein prozentualer Anteil von 40% ergibt. Dagegen wies keine der 5 Patientinnen mit triple-negativem Subtyp DTZ auf.

Ein statistisch signifikanter Zusammenhang kann in dieser ebenfalls relativ kleinen Gruppe nicht nachgewiesen werden ($p=0,087$).

3.4 Überleben und Rezidivierung

3.4.1 Rezidivfreies Überleben (DFS = disease free survival)

3.4.1.1 DFS in Abhängigkeit vom DTZ-Status

Tabelle 24 zeigt das rezidivfreie Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status. Die Daten von insgesamt 3124 Patientinnen wurden ausgewertet.

Tab. 24: DFS in Abhängigkeit vom DTZ-Status

DTZ-Status	Anzahl gesamt	Anzahl der Rezidive	Prozentualer Anteil von Rezidiven	Mittleres rezidivfreies Überleben in Monaten	95% Konfidenzintervall	
					Untere Grenze	Obere Grenze
negativ	2364	186	7,9	129,246	125,167	133,325
positiv	760	89	11,7	122,252	116,732	127,772
gesamt	3124	275	8,8	128,174	124,863	131,486

In der DTZ-negativen Gruppe trat seltener (7,9%) ein Rezidiv auf als in der positiven Gruppe (11,7%). Auch war das mittlere rezidivfreie Überleben in der negativen Gruppe im Schnitt um etwa 7 Monate länger.

Diese Unterschiede sind gemäß des Log-Rank Tests statistisch signifikant ($p=0.001$).

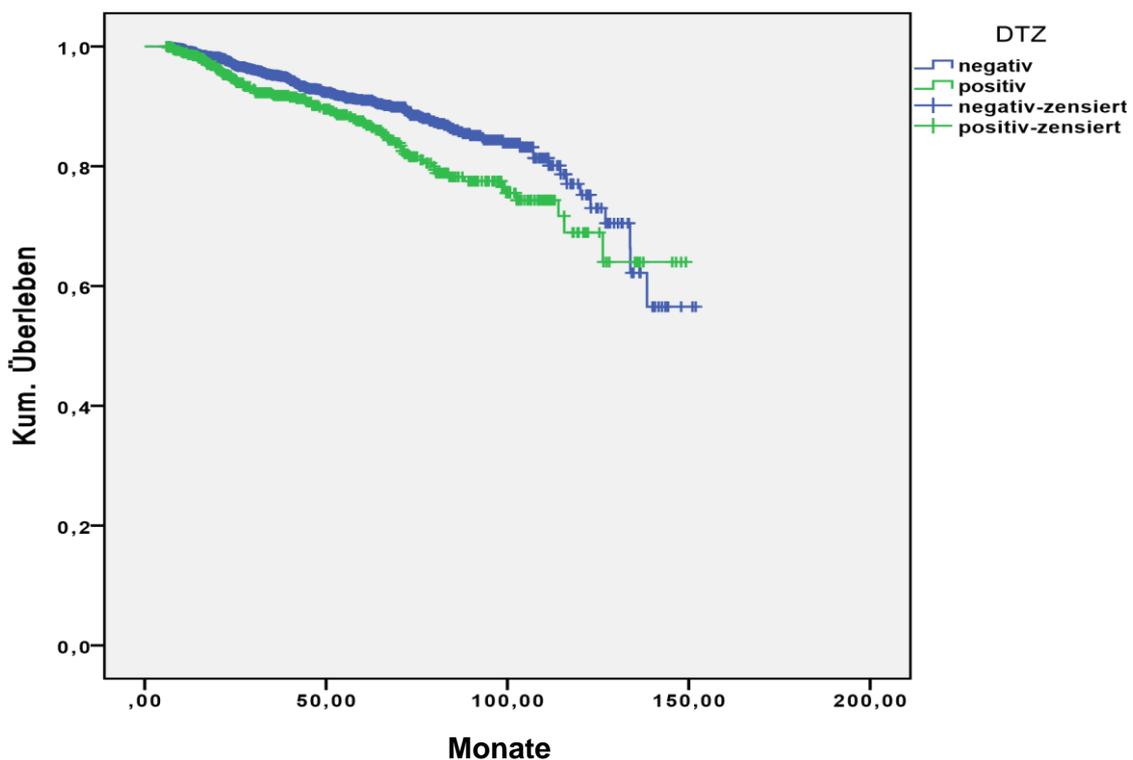


Abb. 34: DFS in Abhängigkeit vom DTZ-Status

3.4.1.2 DFS in Abhängigkeit vom intrinsischen Subtyp

In diesem Teil der Untersuchung wurden die einzelnen intrinsischen Subtypen bezüglich der Rezidivierung miteinander verglichen, unabhängig vom DTZ-Status. Es wurde der PR IRS zur Unterscheidung zwischen luminal A (≥ 3) und luminal B (≤ 2) herangezogen. Die Daten von 3.071 Patientinnen wurden ausgewertet.

Tab. 25: DFS in Abhängigkeit vom intrinsischen Subtyp

Subtyp	Anzahl ge- samt	Anzahl der Rezidive	Prozen- tualer Anteil von Rezidiven	Mittleres rezidiv- freies Überleben	95% Konfidenz- intervall	
					Untere Grenze	Obere Grenze
Luminal A	1987	141	7,1	129,053	124,027	134,080
Luminal B	405	39	9,6	113,702	103,454	123,951
HER2-Typ	370	37	10	128,189	120,827	135,551
Triple- negativ	309	51	16,5	118,675	111,471	125,879
Insgesamt	3071	268	8,7	128,326	124,923	131,729

In der Patientengruppe mit luminal A Tumoren kamen Rezidive am seltensten vor (7,1%). Bei Patientinnen mit Tumoren vom Typ luminal B und HER2-positiv traten häufiger Rezidive auf (9,6% und 10,0%). Am stärksten betroffen war die Gruppe der triple-negativen Patientinnen (16,5%).

Das längste mittlere rezidivfreie Überleben konnte ebenfalls in der luminal A Gruppe festgestellt werden. Allerdings weicht ab hier die Reihenfolge der übrigen Subtypen von der vorherigen Untersuchung ab: Trotz eines höheren Anteils von Rezidiven weist die Gruppe der HER2-positiven Patientinnen das zweitlängste mittlere rezidivfreie Überleben auf und liegt nur knapp hinter der luminal A Gruppe. Dann folgt die triple-negativ Gruppe, das kürzeste mittlere rezidivfreie Überleben kann in der luminal B Gruppe festgestellt werden.

Statistisch gesehen sind diese Unterschiede signifikant ($p < 0,001$).

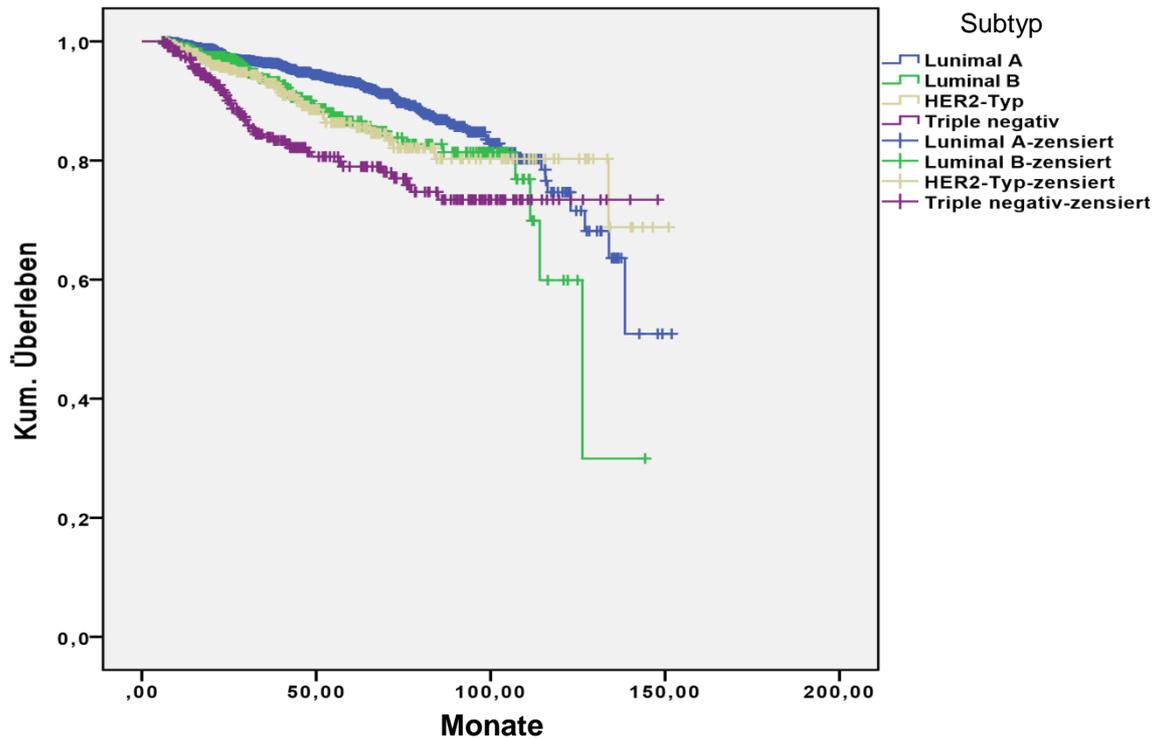


Abb. 35: DFS in Abhängigkeit vom intrinsischen Subtyp

3.4.1.3 DFS in Abhängigkeit vom DTZ-Status und intrinsischen Subtyp

Im folgenden Abschnitt wurde für jeden der vier Subtypen einzeln die Häufigkeit von Rezidiven bei Patientinnen mit und ohne DTZ im Knochenmark miteinander verglichen.

Die Daten von 3.071 Patientinnen wurden ausgewertet.

Tab. 26: DFS in Abhängigkeit vom DTZ-Status und intrinsischen Subtyp

Subtyp	Anzahl ge- samt	Anzahl der Rezidive	Prozen- tualer Anteil von Rezidiven	Mittleres rezidiv- freies Überleben	95% Konfidenz- intervall	
					Untere Grenze	Obere Grenze
Luminal A						
negativ	1526	103	6,7	128,074	122,067	134,081
positiv	461	38	8,2	129,291	122,571	136,012
gesamt	1987	141	7,1	129,053	124,027	134,080
Luminal B						
negativ	294	21	7,1	122,922	111,454	134,391
positiv	111	18	16,2	101,178	90,803	111,552
gesamt	405	39	9,6	113,702	103,454	123,951
HER2- positiv						
negativ	267	17	6,4	135,749	128,179	143,318
positiv	103	20	19,4	106,944	92,269	121,619
gesamt	370	37	10	128,189	120,827	135,551
Triple- negativ						
negativ	235	40	17	113,138	105,695	120,582
positiv	74	11	14,9	117,928	102,024	133,832
gesamt	309	51	16,5	118,675	111,471	125,879
gesamt	3071	268	8,7	128,33	124,92	131,73

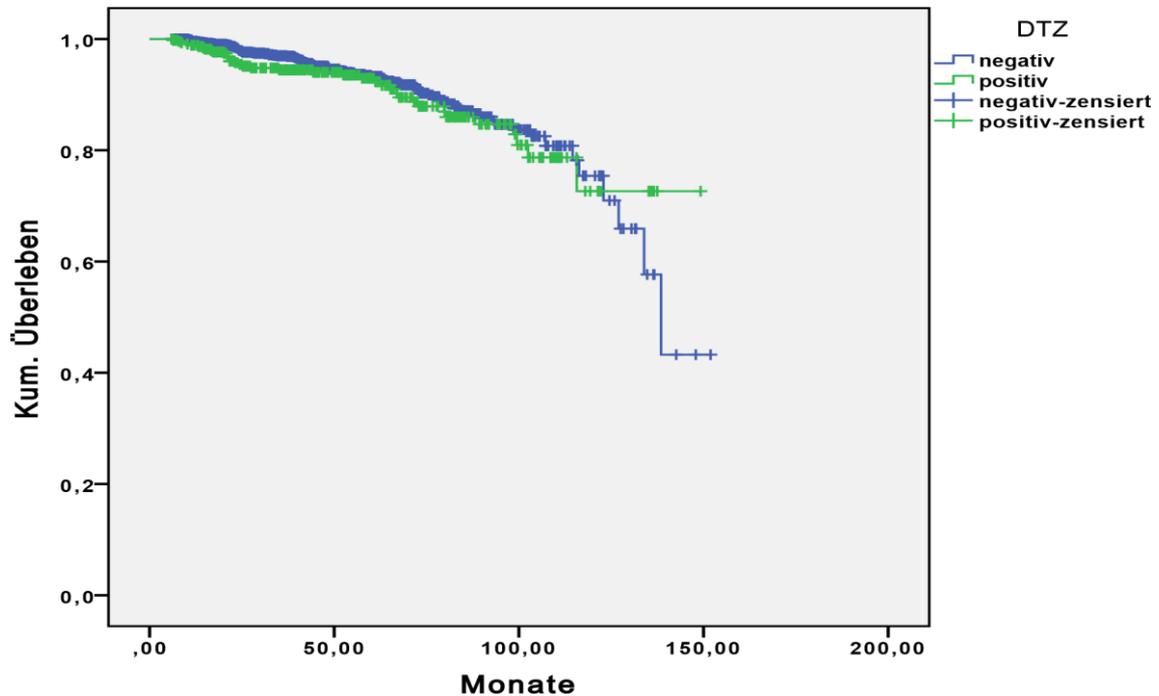


Abb. 36: DFS in Abhängigkeit vom DTZ-Status bei Patientinnen mit luminal A Tumoren

In der luminal A Gruppe war der Unterschied beim Anteil der Patientinnen mit Rezidiven zwischen den DTZ-positiven (6,7%) und negativen (8,2%) Patientinnen am geringsten. Patientinnen dieser Gruppe waren insgesamt am seltensten von Rezidiven betroffen.

Auch die durchschnittliche rezidivfreie Überlebenszeit zeigte keine nennenswerten Unterschiede zwischen Patientinnen mit und ohne Knochenmarkbefund.

Die geringen Unterschiede sind statistisch nicht signifikant ($p=0,325$)

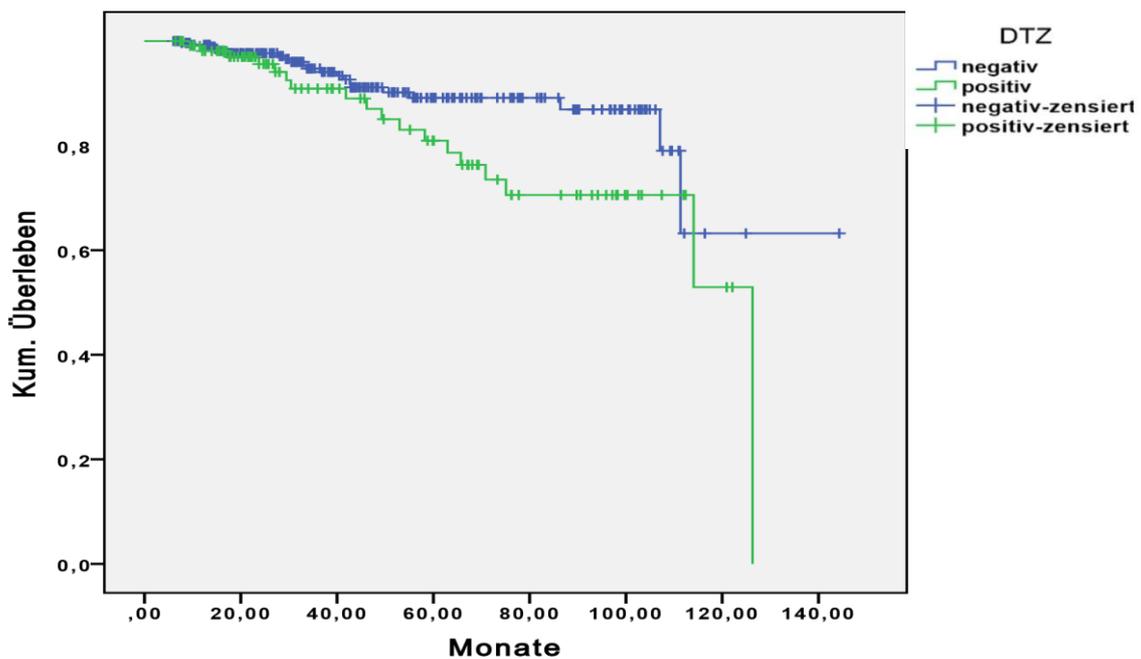


Abb. 37: DFS in Abhängigkeit vom DTZ-Status bei Patientinnen mit luminal B Tumoren

In der luminal B Gruppe dagegen waren deutliche Unterschiede zwischen Patientinnen mit und ohne DTZ im Knochenmark zu erkennen. Die Patientinnen mit negativem Befund erkrankten in 7,1% der Fälle an einem Rezidiv und wiesen ein durchschnittliches rezidivfreies Überleben von 123 Monaten auf, während Patientinnen mit positivem Befund in 16,2% der Fälle an einem Rezidiv erkrankten und ein durchschnittliches rezidivfreies Überleben von 101 Monaten aufwiesen.

Diese Unterschiede sind statistisch signifikant ($p=0,038$).

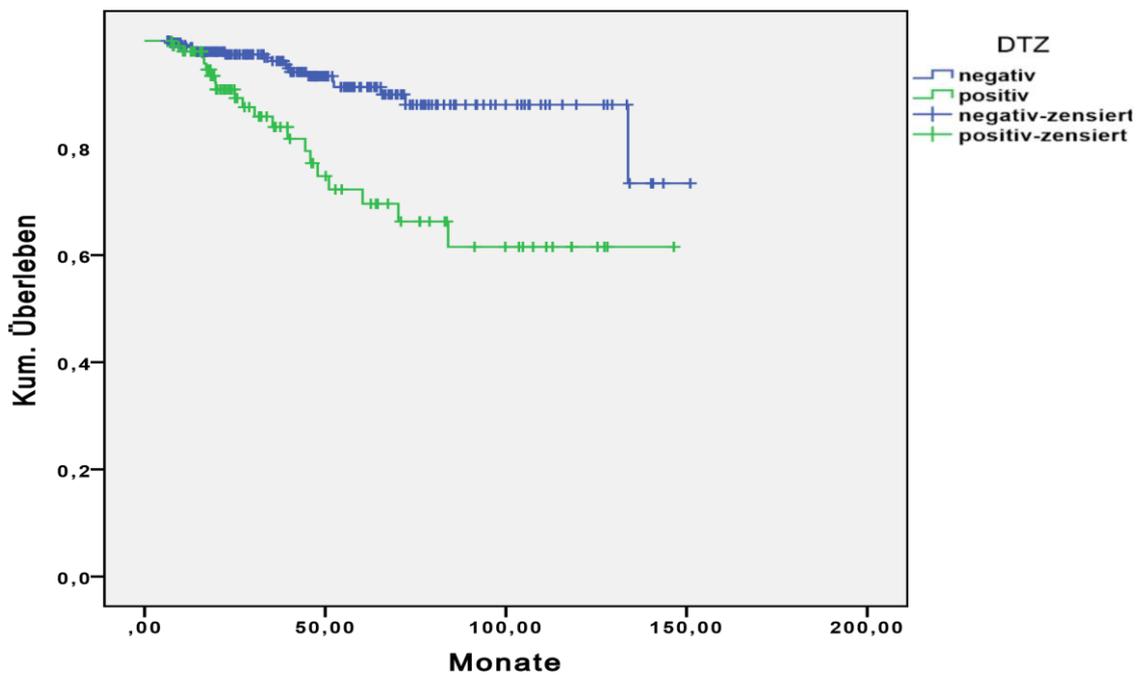


Abb. 38: DFS in Abhängigkeit vom DTZ-Status bei Patientinnen mit HER2-positiven Tumoren

In der Gruppe der Patientinnen mit HER2-positivem Tumor waren die größten Unterschiede zwischen den DTZ-positiven und negativen zu verzeichnen. Die Patientinnen mit negativem Knochenmarkbefund erkrankten in 6,4% der Fälle und nach durchschnittlich 136 Monaten an einem Rezidiv, während die Patientinnen mit positivem Knochenmarkbefund in 19,4% der Fälle und nach durchschnittlich 107 Monaten an einem Rezidiv erkrankten. Diese Unterschiede sind statistisch gesehen signifikant ($p < 0,001$).

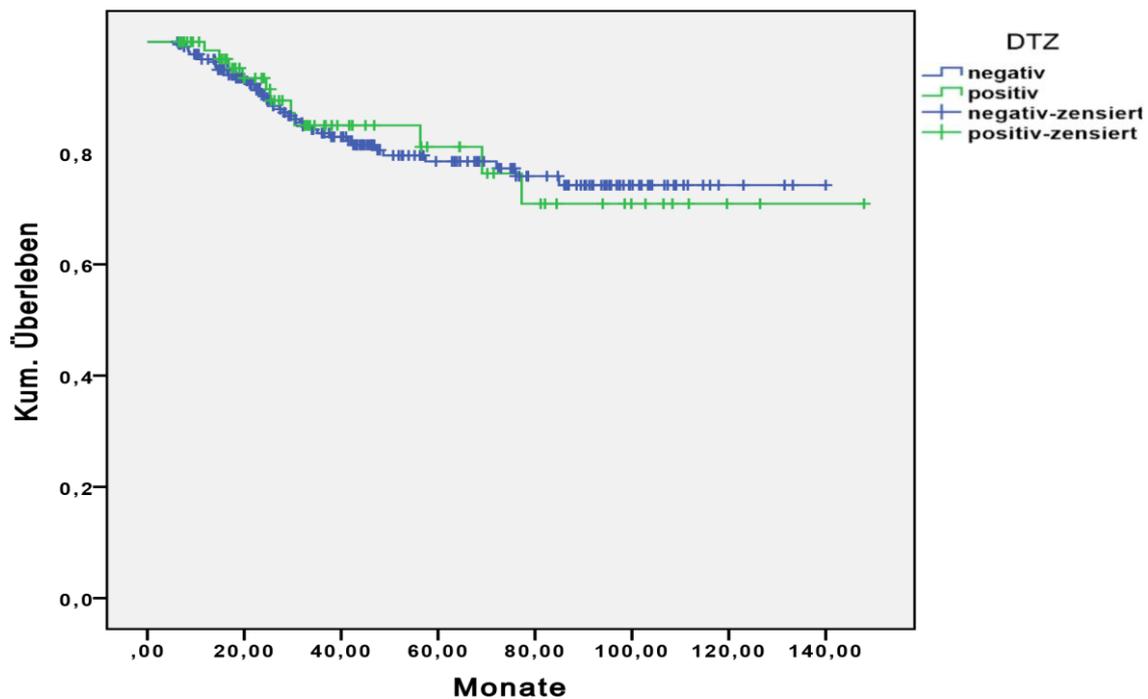


Abb. 39: DFS in Abhängigkeit vom DTZ-Status bei Patientinnen mit triple-negativen Tumoren

In der Gruppe mit dem häufigsten Auftreten von Rezidiven, der triple-negativen Gruppe, zeigten sich beim Anteil der Patientinnen mit Rezidiven wieder kleinere Unterschiede zwischen DTZ-negativen (17%) und positiven (14,9%)

Patientinnen. DTZ-negative Patientinnen überlebten im Schnitt 113 Monate, DTZ-positive 117 Monate rezidivfrei.

Auffällig ist hier allerdings, dass die Patientinnen, die nachgewiesen an einer Tumorzell dissemination erkrankt sind, weniger häufig von Rezidiven betroffen waren und diese auch später auftraten als bei Patientinnen ohne erbrachten Tumorzellnachweis im Knochenmark.

Die Unterschiede in dieser Gruppe sind statistisch nicht signifikant ($p = 0,933$).

3.4.2 Gesamtüberleben (overall survival = OS)

3.4.2.1 Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status

Im folgenden Abschnitt ist das Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status dargestellt. Die Daten von insgesamt 2.903 Patientinnen und Patienten wurden ausgewertet.

Tab. 27: Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status

DTZ - Status	Anzahl gesamt	Anzahl der Todesfälle	Prozentualer Anteil von Todesfällen	Mittleres Überleben	95% Konfidenzintervall	
					Untere Grenze	Obere Grenze
negativ	2249	192	8,5	100,308	99,045	101,571
positiv	654	94	14,4	94,106	91,312	96,901
gesamt	2903	286	9,9	98,878	97,712	100,044

Es zeigte sich, dass die Patientinnen mit erbrachtem DTZ-Nachweis im Knochenmark wesentlich häufiger innerhalb der untersuchten Zeit verstarben (14,4%) als Patientinnen, bei denen keine DTZ nachgewiesen werden konnten (8,5%).

Auch war ihre durchschnittliche Überlebenszeit mit 100 Monaten länger als bei Patientinnen mit positivem Knochenmarkstatus (94 Monate).

Diese Unterschiede erweisen sich bei einem p-Wert von <0,001 als statistisch signifikant.

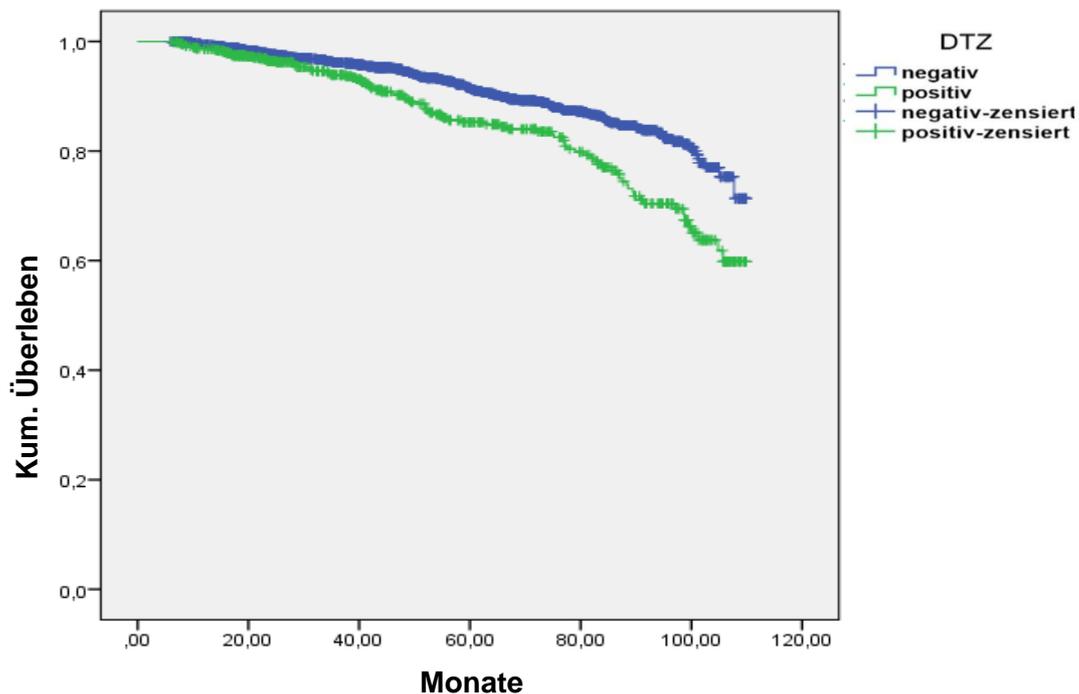


Abb. 40: Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status

3.4.2.2 Überleben in Abhängigkeit vom intrinsischen Subtyp

In diesem Teil der Untersuchung wurden die einzelnen intrinsischen Subtypen bezüglich des Überlebens der Patientinnen miteinander verglichen, unabhängig von deren DTZ-Status. Es flossen die Daten von 2.864 Patientinnen ein.

Tab. 28: Überleben in Abhängigkeit vom intrinsischen Subtyp

Subtyp	Anzahl gesamt	Anzahl der Todesfälle	Prozentualer Anteil von Todesfällen	Mittleres Überleben	95% Konfidenzintervall	
					Untere Grenze	Obere Grenze
Luminal A	1871	149	8,0	100,989	99,656	102,323
Luminal B	398	42	10,6	96,723	93,267	100,179
HER2-positiv	313	38	12,1	94,589	90,274	98,904
Triple-negativ	282	47	16,7	92,146	87,745	96,546
gesamt	2864	276	9,6	99,099	97,932	100,266

In der Gruppe der Patientinnen mit luminal A Tumoren wurden, wie auch bei der Untersuchung der Rezidivierung, die wenigsten Todesfälle registriert (8,0% der Fälle). Auch die durchschnittliche Überlebenszeit war mit 101 Monaten am längsten von allen Gruppen.

In der luminal B Gruppe traten häufiger Todesfälle auf (10,6%) und das durchschnittliche Überleben war mit 97 Monaten etwas kürzer als in der luminal A Gruppe.

12,1% der Patientinnen mit HER2-positivem Tumorsubtyp verstarben innerhalb des untersuchten Zeitraumes. Ihre durchschnittliche Überlebenszeit betrug 94,5 Monate.

Am häufigsten wurden Todesfälle in der triple-negativen Gruppe festgestellt (16,7%). Auch die Überlebenszeit war mit durchschnittlich 92 Monaten in dieser Gruppe am kürzesten.

Statistisch sind diese Ergebnisse bei einem p-Wert von $<0,001$ signifikant.

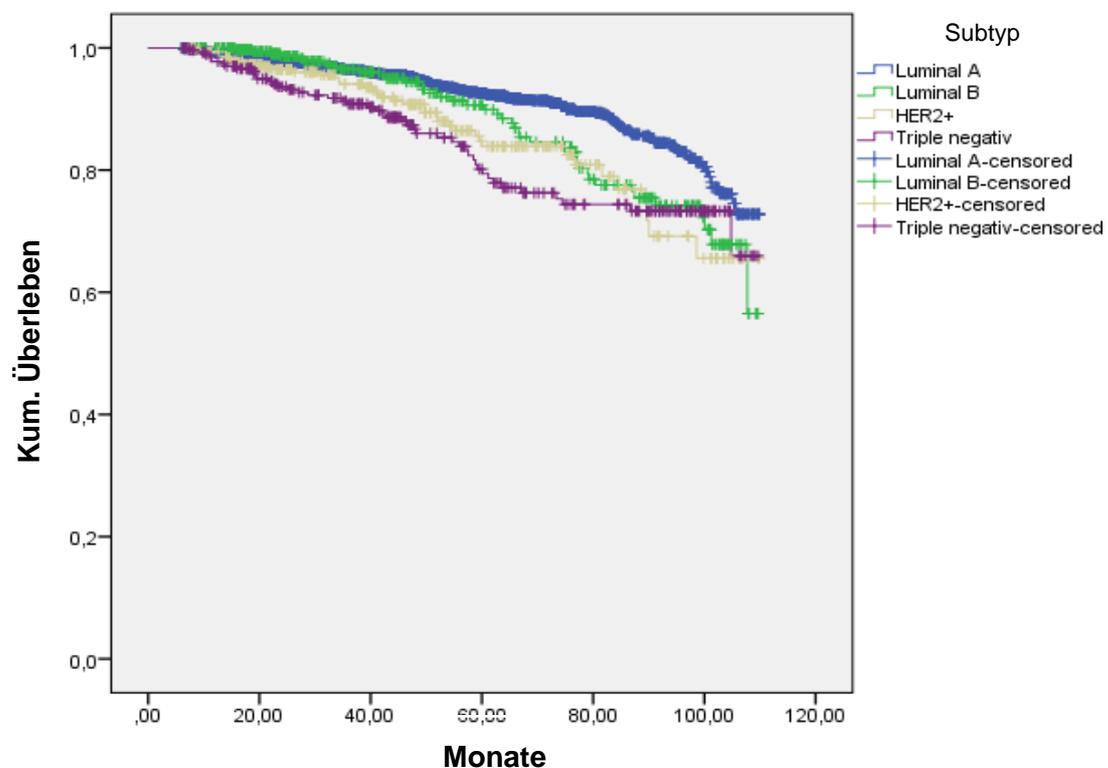


Abb. 41: Überleben in Abhängigkeit vom intrinsischen Subtyp

3.4.2.3 Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status und Tumorsubtyp

Im folgenden Abschnitt wurde für jeden der vier Subtypen das Überleben bei Patientinnen mit und ohne DTZ im Knochenmark miteinander verglichen.

Die Daten von 2.864 Patientinnen wurden ausgewertet.

Tab. 29: Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status und Tumorsubtyp

Subtyp/ DTZ - Status	Anzahl gesamt	Anzahl der Todes- fälle	Prozentualer Anteil von Todesfällen	Mitt- leres Über- leben	95% Konfidenz- intervall	
					Untere Grenze	Obere Grenze
Luminal A						
negativ	1467	107	7,3	101,586	100,103	103,068
positiv	404	42	10,4	98,482	95,315	101,649
gesamt	1871	149	8,0	100,989	99,656	102,323
Luminal B						
negativ	297	24	8,1	98,529	94,546	102,511
positiv	101	18	17,8	92,922	86,507	99,3371
gesamt	398	42	10,6	96,723	93,267	100,179
HER2- positiv						
negativ	234	20	8,5	99,472	95,175	103,769
positiv	79	18	22,8	78,066	67,974	88,158
gesamt	313	38	12,1	94,589	90,274	98,904
Triple- negativ						
negativ	221	34	15,4	93,73	88,970	98,498
positiv	61	13	21,3	86,029	75,482	96,575
gesamt	282	47	16,7	92,146	87,745	96,546
gesamt	2864	276	9,6	99,1	97,93	100,27

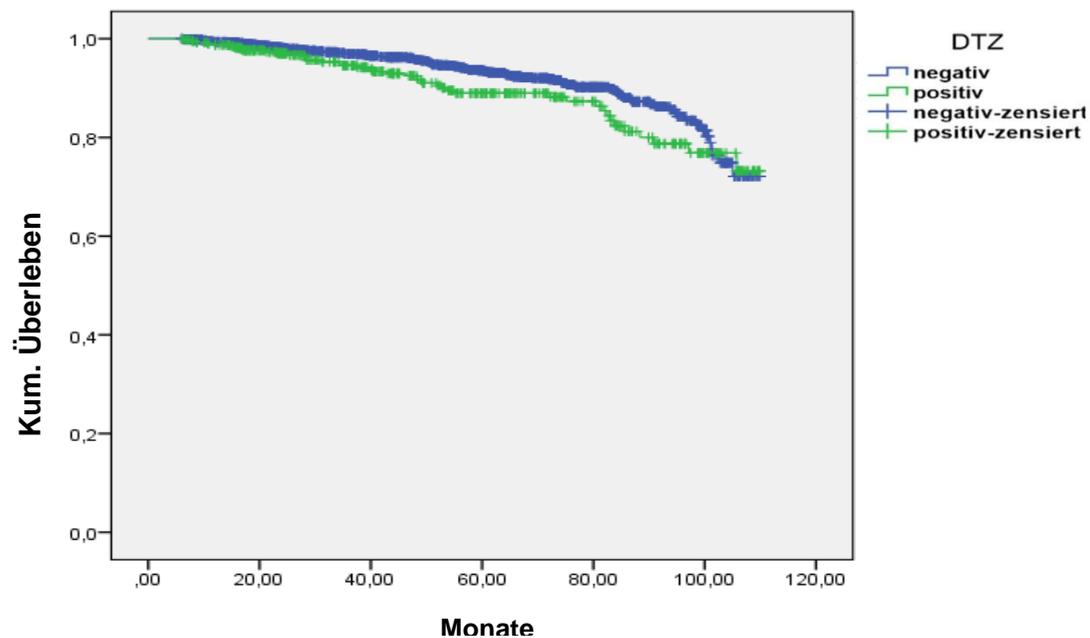


Abb. 42: Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status bei Patientinnen mit luminal A Tumoren

In der luminal A Gruppe zeigten sich wieder, wie schon in der Untersuchung des rezidivfreien Überlebens, die geringsten Unterschiede bei der Häufigkeit von Todesfällen zwischen den DTZ-negativen (7,3%) und positiven (10,4%) Patientinnen.

Die Patientinnen mit erbrachtem Tumorzellnachweis im Knochenmark überlebten im Schnitt 98,5 Monate, solche ohne 101,5 Monate ab dem Zeitpunkt der Operation.

Diese Unterschiede erweisen sich im Log-Rank Test knapp als statistisch nicht signifikant ($p = 0,051$).

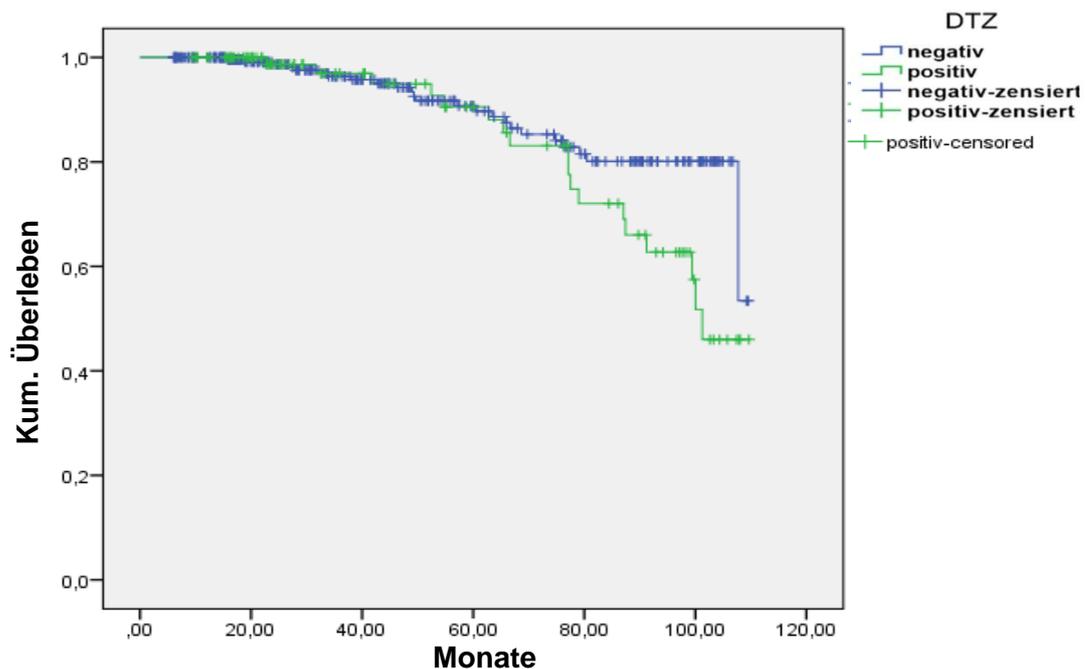


Abb. 43: Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status bei Patientinnen mit luminal B Tumoren

Größere Unterschiede konnten in der Patientengruppe mit luminal B Tumoren ausgemacht werden: 17,8% der DTZ-positiven Patientinnen verstarben innerhalb des untersuchten Zeitraumes und sie überlebten im Schnitt 93 Monate, bei den DTZ-negativen war dies nur bei 8,1% der Fall und die Patientinnen überlebten durchschnittlich 98,5 Monate.

Auch hier liegt der p-Wert mit 0,056 nur knapp oberhalb der Signifikanzschwelle.

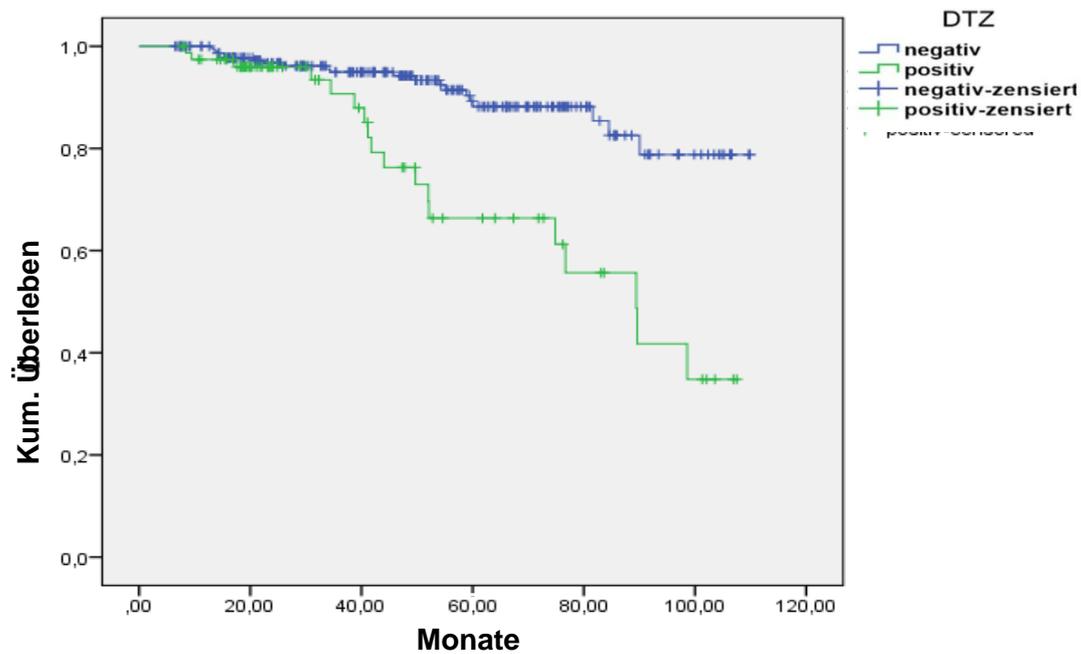


Abb. 44: Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status bei Patientinnen mit HER2-positiven Tumoren

Wieder waren die größten Unterschiede in der Gruppe der HER2-positiven zu verzeichnen. 22,8% der Patientinnen mit Tumorzellnachweis im Knochenmark verstarben, während dies nur bei 8,5% der DTZ-negativen der Fall war.

Auch die Überlebenszeit war bei den DTZ-positiven mit durchschnittlich 78 Monaten deutlich kürzer als bei den DTZ-negativen Patientinnen mit durchschnittlich 99,5 Monaten.

Statistisch sind diese Unterschiede bei einem p-Wert von $<0,001$ signifikant.

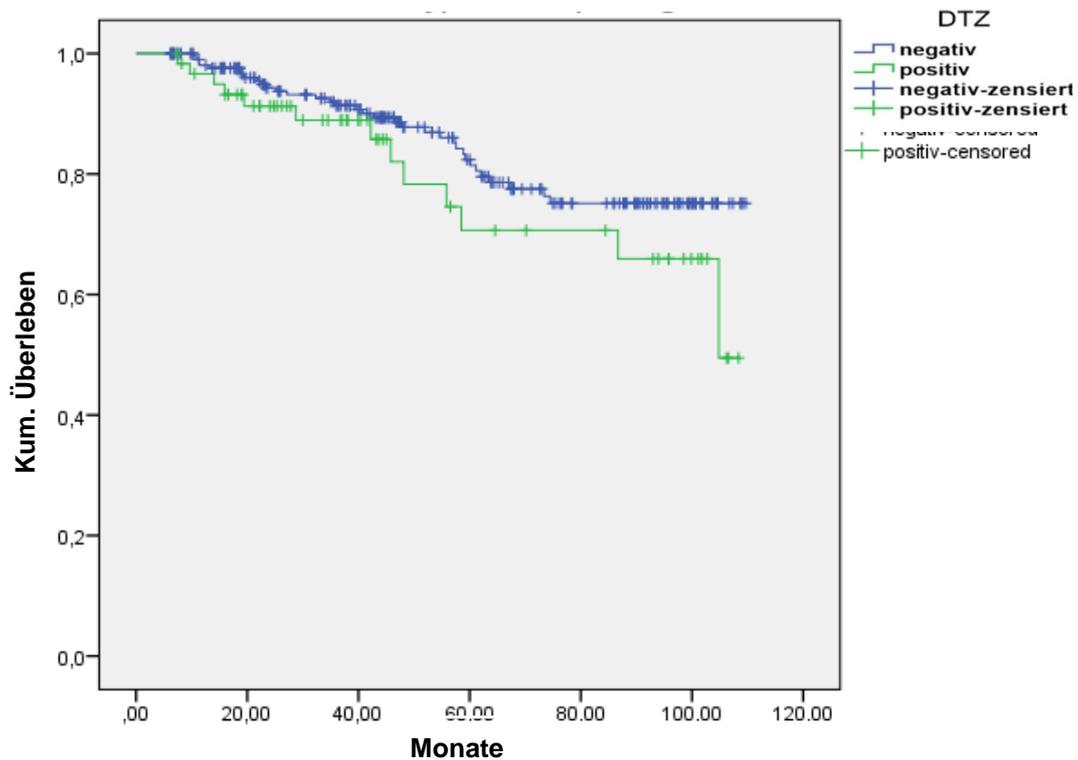


Abb. 45: Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status bei Patientinnen mit triple-negativen Tumoren

Wie bei der Untersuchung des rezidivfreien Überlebens fiel in der Gruppe mit triple-negativem Tumorsubtyp auch beim Gesamtüberleben die Prognose am schlechtesten aus. 15,4% der Patientinnen ohne nachgewiesene disseminierte Tumorzellen im Knochenmark starben innerhalb des untersuchten Zeitraumes, die durchschnittliche Überlebenszeit betrug 93,5 Monate.

Patientinnen mit erbrachtem Tumorzellnachweis im Knochenmark verstarben in 21,3% der Fälle, die durchschnittliche Überlebenszeit betrug 86 Monate ab der Operation.

Bei einem p-Wert von 0,164 sind die Unterschiede statistisch nicht signifikant.

4 Diskussion

4.1 Einfluss klinischer Parameter auf den DTZ-Status

Der Knochenmarkstatus ist inzwischen, wie auch die klassischen, histopathologischen Kriterien zur Abschätzung der Prognose, ein eigenständiger prognostischer Faktor.^{27, 56, 75, 76, 109} Für ein besseres Verständnis der Gesamtbiologie des Tumors ist daher auch die Untersuchung der Zusammenhänge dieser einzelnen Messgrößen von großer Bedeutung.

4.1.1 Menopausenstatus und DTZ-Status

Der Menopausenstatus gilt als prognostisch relevant. Ein prämenopausaler Beginn der Erkrankung wird mit einer allgemein ungünstigeren Prognose in Verbindung gebracht.

Gleiches gilt für das Alter zum Zeitpunkt der Diagnose. Jüngere Patientinnen weisen eine höhere Rezidivrate und eine kürzere Überlebenszeit als ältere Patientinnen auf.^{77, 78, 79, 80} Kroman et al.⁷⁷ konnten einen solchen signifikanten Zusammenhang allerdings nur in der Gruppe der low-risk Patientinnen, die keine adjuvante Chemotherapie erhielten, feststellen. Bei den Patientinnen, die eine adjuvante Chemotherapie erhielten, gab es keine signifikanten Unterschiede.

Dies könnte zu der Annahme führen, dass auch zwischen dem Menopausenstatus und der Tumorzell dissemination ins Knochenmark ein Zusammenhang besteht. Dennoch kommen viele Untersuchungen zu einem anderen Ergebnis.^{27, 75, 76, 81, 82, 83} Diesbezüglich kann auch diese Untersuchung keinen signifikanten Zusammenhang nachweisen. Die prämenopausale Gruppe

wies mit 22,9% sogar einen geringeren Anteil DTZ-positiver Patientinnen auf als die postmenopausale Gruppe mit 23,6%. Einen ähnlichen, signifikanten ($p=0,01$) Zusammenhang fanden Diel et al., in deren Studie 38% der prämenopausalen und 47% der postmenopausalen Patientinnen Tumorzellen im Knochenmark aufwiesen.²⁴ Auffällig sind hier die absolut gesehen höheren Werte an DTZ-positiven für beide Gruppen im Vergleich zur sonstigen Literatur und dieser Untersuchung. Dies ist vermutlich begründet durch die Methoden von Diel et. al., etwa Knochenmarkaspiration an zwei Stellen, Entnahme nach der Tumoresektion sowie die histologischen Methoden.

Möglicherweise ist aber ein positiver KM-Status bei jungen Patientinnen ein Indikator für ein hohes metastatisches Potenzial und diese Patientinnen sind damit als Hochrisikopatientinnen anzusehen. So fanden Kroman et al. im Vergleich zu älteren Patientinnen eine höhere Sterberate bei jüngeren Patientinnen mit niedrigem Risiko, die keine Chemotherapie erhielten.⁷⁷

4.1.2 Histologie und DTZ-Status

Prognostisch gesehen gilt die Histologie als relevanter, wenn auch nicht wichtigster Faktor. Am häufigsten tritt die duktal invasive Form auf, wesentlich seltener die lobulär invasive Form, die auch als weniger aggressiv gilt. Weiterhin existieren viele weitere Typen, die statistisch sehr viel seltener vorkommen und in dieser Untersuchung in der Gruppe „Andere“ zusammengefasst wurden.

Mehrere Arbeitsgruppen konnten keine statistisch signifikante Korrelation zwischen dem histologischen Karzinomtyp und dem KM-Status finden.^{56, 81, 84} Die eigenen Ergebnisse zeigten jedoch einen solchen signifikanten Zusammenhang. So war der Anteil der Patientinnen, die DTZ aufwiesen, in der Gruppe der invasiv lobulären Karzinome höher als in den anderen Gruppen. Bei den invasiv duktalem Karzinomen waren dies 22,7%, bei den lobulären 27,4% und bei den anderen Karzinomtypen 22,9% der Patientinnen.

Eine denkbare Erklärung hierfür ist, dass invasiv lobuläre Karzinome aufgrund ihres langsameren und diffusen Wachstums häufig später oder in einem fortgeschrittenen Tumorstadium erkannt werden, sodass mehr Zeit zur Tumorzell dissemination zur Verfügung stand. In der Arbeit von Harbeck et al.⁸¹ wiesen unter den 71 Patientinnen mit invasiv duktalem Karzinom 22 DTZ auf. Von den nur 11 Patientinnen mit invasiv lobulärem Karzinom wiesen 8 DTZ auf. Der p-Wert liegt mit 0,13 nicht weit vom Signifikanzniveau entfernt.

4.1.3 Grading und DTZ-Status

Wenig- und undifferenzierte Mammakarzinome zeichnen sich durch ein aggressiveres Wachstum und, damit einhergehend, durch eine schlechtere Prognose im Vergleich zu Tumoren mit guter histologischer Differenzierung aus. In der Literatur herrscht jedoch keine Einigkeit darüber, ob auch zwischen dem Tumorgrading und der Tumorzell dissemination ins Knochenmark Zusammenhänge bestehen. Die Ergebnisse einiger Arbeitsgruppen sprechen dafür, dass bei weniger differenzierten Tumoren häufiger DTZ im Knochenmark nachgewiesen werden können^{25, 56, 76, 83, 85}, andere dagegen^{27, 81, 82}. Diese Untersuchung kann zumindest keinen statistisch signifikanten Zusammenhang nachweisen. Dennoch zeigt sich ein sinkender Anteil von Patientinnen mit positivem Knochenmarkbefund bei steigender histologischer Differenzierung der Tumoren. So sind 24,1% der in G3 eingeteilten Patientinnen DTZ-positiv, 23,8% der Patientinnen mit G2 Tumoren und in der G1 Gruppe lediglich 19,1%.

4.1.4 Tumorstadium bzw. Tumorgröße und DTZ-Status

Größere Tumoren sind häufiger mit axillären Lymphknotenmetastasen vergesellschaftet und gehen mit einer insgesamt schlechteren Prognose einher.^{22, 86} Die Vermutung, dass dieser Zusammenhang auch mit dem DTZ-Status besteht, liegt nahe, da bei großen Tumoren zum Zeitpunkt der Diagnose bereits mehr Zeit für den Prozess der Tumorzell dissemination zur Verfügung

stand oder ein sehr aggressiv wachsender Tumor vorlag, was ebenfalls mit erhöhten Wahrscheinlichkeit für einen positiven KM-Status in Verbindung gebracht werden könnte.

Diesen Zusammenhang bestätigen die Untersuchungen zahlreicher Arbeitsgruppen^{56, 75, 76, 85, 87, 88, 89, 90}, während andere keinen signifikanten Zusammenhang dieser Parameter nachweisen können^{81, 82, 91, 92}.

Im eigenen Patientenkollektiv waren 21,8% der T1, 25,5% der T2, 33,7% der T3 und 30,6% der T4 Patientinnen DTZ-positiv, wobei nur 1% aller Patientinnen (36) überhaupt einen T4 Tumor aufwiesen. Dieser Zusammenhang ist bei einem p-Wert von 0,001 statistisch signifikant. Durch die geringe Anzahl von Patientinnen mit T4 Tumoren lässt sich möglicherweise erklären, warum in dieser Gruppe weniger DTZ-positive Patientinnen zu verzeichnen waren als in der T3 Gruppe und im Vergleich mit anderen Untersuchungen an Patientinnen mit T4 Tumoren.^{24, 93} Allerdings ist eine gewisse Abweichung zwischen verschiedenen Untersuchungen aufgrund der unterschiedlichen Methoden zur Untersuchung des Knochenmarks nicht verwunderlich.

Außerdem scheint ein positiver DTZ-Status bei kleinen Tumoren von besonderer prognostischer Bedeutung zu sein, da bei dieser Konstellation eine sehr frühzeitige Tumorzellaussaat vorliegt und somit möglicherweise von einem größeren metastatischen Potenzial des jeweiligen Tumors ausgegangen werden kann, was zur Identifizierung von Risikopatientinnen dienen könnte. So war in einer Untersuchung von Diel et al. bei Patientinnen mit Tumoren < 2cm der DTZ-Status der stärkste prognostische Faktor.²⁴

4.1.5 Lymphknotenstatus und DTZ-Status

Der Lymphknotenstatus ist bis heute einer der wichtigsten Prognosefaktoren beim Mammakarzinom. Nodalpositive Patientinnen haben hinsichtlich des rezidivfreien sowie des Gesamtüberlebens eine signifikant schlechtere Prognose als Patientinnen ohne Befunde an den Lymphknoten.^{94, 95} Ebenfalls sind DTZ ein eigenständiger, unabhängiger prognostischer Faktor für einen ungünstigen Verlauf.⁵⁶

Ob ein Zusammenhang zwischen beiden besteht und welche Faktoren darüber entscheiden, ob ein Tumor streut und auf welchem Weg, ist bislang nicht geklärt.⁹⁶

Wenn man einen positiven Lymphknoten- bzw. Knochenmarkstatus als Indikator für einen bereits abgelaufenen metastatischen Prozess ansieht, liegt zumindest die Vermutung nahe, dass ein Zusammenhang zwischen beiden besteht.

Viele Arbeitsgruppen konnten in ihren Daten diesen Zusammenhang nachweisen^{24, 56, 75, 76, 85, 89, 91}, während andere zu abweichenden Ergebnissen kamen^{27, 59, 81, 82}.

Im hier untersuchten Patientenkollektiv wurden bei 22,7% der nodalnegativen und 24,8% der nodalpositiven Patientinnen zytokeratinpositive Zellen im Knochenmark nachgewiesen. Dieser Unterschied erweist sich allerdings als statistisch nicht signifikant ($p=0,17$). Die Differenz erscheint aber viel kleiner als man erwarten könnte.

Klar ist, dass es viele Patientinnen gibt, die nur Anzeichen für einen Weg der Metastasierung aufweisen, nicht für beide gleichzeitig.¹³ Möglicherweise ist also in der biologischen „Identität“ des Tumors nicht nur festgelegt, wie groß das metastatische Potenzial ist, sondern auch, auf welchem Wege dies geschieht. Dies könnte beispielsweise in der Fähigkeit oder Unfähigkeit der Tumorzellen, in Blut- oder Lymphgefäße einzudringen, begründet sein.⁵⁹ Denkbar ist auch, dass die je nach Person unterschiedlichen Begebenheiten auf dem lymphatischen oder hämatogenen Weg einen Einfluss darauf haben, ob sich disseminierte Tumorzellen dort ansiedeln können oder zugrunde gehen.

4.1.6 Hormonrezeptorstatus und DTZ-Status

Der Östrogenrezeptor hat bei einer Brustkrebserkrankung sowohl einen prognostischen Wert hinsichtlich des Gesamtüberlebens^{95, 97, 98} als auch eine prädiktive Bedeutung bezüglich des Nutzens bzw. für die Indikationsstellung einer adjuvanten, systemischen Therapie.

In der Literatur gibt es unterschiedliche, zum Teil widersprüchliche Antworten auf die Frage, ob es einen Zusammenhang zwischen Östrogenrezeptor und Tumorzell dissemination ins Knochenmark gibt. Einige Arbeitsgruppen fanden diese Zusammenhänge^{75, 76, 96}, andere konnten sie nicht nachweisen^{24, 25, 27, 81, 85}.

Die eigenen Ergebnisse zeigen zumindest keine statistisch signifikante Korrelation von ER- und KM-Status. 24,9% der ER-negativen Patientinnen wiesen Tumorzellen im Knochenmark auf, während diese nur bei 23% der ER-positiven Patientinnen nachgewiesen werden konnten. Der p-Wert dieser Analyse liegt bei 0,300.

Auch bei der Analyse eines möglichen Zusammenhangs zwischen PR- und KM-Status fiel auf, dass die Patientinnen mit positivem Rezeptorstatus seltener (22,1%) Tumorzellen im Knochenmark aufwiesen als die Patientengruppe mit negativem Rezeptorstatus (26,2%). In dieser Untersuchung erwiesen sich die Unterschiede dagegen als statistisch signifikant ($p=0,006$).

4.1.7 HER2-Status und DTZ-Status

In der Literatur wird eine HER2-Überexpression bzw. eine *cerbb2*-Amplifikation mit einem verhältnismäßig aggressiven Tumorwachstum und einer schlechten Prognose in Verbindung gebracht.^{38, 39, 40, 99}

Von den 434 HER2-positiven Patientinnen in unserem Kollektiv wiesen 27,9% disseminierte Tumorzellen im Knochenmark auf, während dies nur bei 22,6% der HER2-negativen der Fall war. Dieser deutliche Unterschied ist statistisch signifikant bei einem p-Wert von 0,015. Einige Arbeitsgruppen kommen zum selben Ergebnis^{67, 89, 96, 110}, andere können dies nicht bestätigen⁷⁶.

Möglicherweise ist dieser Zusammenhang aber noch gravierender. Wenn man annimmt, dass eine Trastuzumab Therapie, die 211 (5,6%) der HER2-positiven Patienten in diesem Patientenkollektiv bekommen haben, DTZ beseitigen kann, wie Rack et al. zeigen konnten¹⁰⁰, so wiesen vor der Trastuzumab Therapie eventuell noch mehr der HER2-positiven Patientinnen DTZ auf.

4.2 Einfluss des intrinsischen Tumorsubtyps auf den DTZ-Status

Inzwischen hat sich ein Verständnis darüber etabliert, dass Brustkrebs eine heterogene Erkrankung ist und nicht jeder Tumor dieselbe Biologie aufweist. Entsprechend werden im Hinblick auf die Prognose nicht mehr nur die klassischen Stagingparameter herangezogen, sondern auch die einzelnen, ursprünglich durch Perou et al.¹⁷ definierten intrinsischen Subtypen miteinander verglichen. Es stellte sich heraus, dass es signifikante Unterschiede zwischen diesen Subtypen hinsichtlich der Prognose gibt. Bei luminal A Tumoren zeigte sich ein günstigerer Verlauf als bei Tumoren vom Typ luminal B, HER2-positiv oder triple-negativ.^{47, 101, 102} Es konnte außerdem nachgewiesen werden, dass die Einzelparameter, die zur histopathologischen Subtypenbestimmung herangezogen werden, wie etwa der ER- und PR-IRS, der HER2-Status oder auch der Ki-67 Wert, von prognostischer Bedeutung sind und diese Parameter teilweise signifikant mit dem DTZ-Status korrelieren. Dies lässt den Schluss zu, dass auch Zusammenhänge zwischen dem intrinsischen Subtyp und dem DTZ-Status bestehen.

In der klinischen Routine werden derzeit die unterschiedlichen Subtypen mittels immunhistochemischer Methoden anstatt mittels Genexpressionsanalysen klassifiziert. Schwierig ist hierbei die Unterscheidung zwischen luminal A und B, deren Aggressivität und Prognose deutlich voneinander abweichen. Zur Unterscheidung wird neben der PR-Expression häufig der Ki-67 Wert herangezogen. Allerdings ist unklar, welcher Cut-off verwendet werden sollte. Gemäß den St. Gallen Consensus Kriterien von 2013 erfolgt die Klassifizierung eines luminal-like Tumors als luminal B, wenn entweder ein hoher Ki-67 Wert (>14%) oder ein geringer PR vorliegt, also weniger als 20% der Tumorzellen PR-positiv sind.²⁰ Dies stützt sich auf die Arbeit von Prat et al.¹⁰³.

Die eigenen Ergebnisse bestätigen einen Zusammenhang zwischen intrinsischem Subtyp und DTZ-Status und zeigen vor allem auch deutliche

Unterschiede zwischen den Subtypen luminal A und B. Dies betont die Bedeutung der Unterscheidung zwischen luminal A und B und kann bei der Identifizierung von Patientinnen mit hohem, aber auch solchen mit niedrigerem Risiko helfen. Dabei erwiesen sich alle drei angewendeten Verfahren als geeignet und effektiv.

4.2.1 Unterscheidung nach PR IRS

Das Patientenkollektiv, hier bestehend aus 3686 Individuen, teilte sich wie folgt auf die einzelnen intrinsischen Subtypen auf:

Luminal A 64,5%, luminal B 13,7%, HER2-positiv 11,8 %, 10 % triple-negativ.

Die Gruppe der 2.883 hormonrezeptorpositiven Patientinnen setzte sich somit zu 17% aus luminal B und 83% aus luminal A zusammen. Verglichen mit der Subtypenbestimmung durch Genexpressionsanalyse in anderen

Untersuchungen fällt hier ein relativ hoher Anteil luminal A bei einem relativ geringen Anteil luminal B und triple-negativ auf.^{47, 101, 104} Der Grund hierfür könnte sein, dass Patientinnen, die bereits Metastasen hatten, ausgeschlossen wurden. Möglicherweise wies ein größerer Anteil der Patientinnen mit luminal B oder triple-negativem Tumorsubtyp bereits Metastasen auf und erfüllten daher nicht die Einschlusskriterien. Auch die hier verwendete, von den zitierten Untersuchungen abweichende Methode zur Unterscheidung zwischen luminal A und B mittels PR IRS kann ebenfalls eine Erklärung liefern.

In der luminal A Gruppe waren erwartungsgemäß am seltensten (21,9%) disseminierte Tumorzellen im Knochenmark zu finden. Außerdem wiesen Patientinnen mit positivem Progesteronrezeptorstatus, also einem PR IRS von 3 oder größer, seltener DTZ auf (22,1%) als Patientinnen mit einem PR IRS von 2 oder kleiner (26,2%).

Darauf folgt die Gruppe der triple-negativen Patientinnen mit 23,8% positiver Knochenmarkbefunde. Bei diesem intrinsischen Subtyp liegt somit der zweitkleinste Anteil DTZ-positiver Patientinnen vor. Die schlechtere Prognose, die allgemein mit diesem Subtyp in Verbindung gebracht wird, scheint also nicht

in einer im Vergleich zu den anderen Subtypen verstärkten Neigung zur Tumorzell dissemination ins Knochenmark begründet zu sein. Anschließend folgte luminal B mit 25,4% positiver KM-Befunde, wie erwartet häufiger als in der luminal A Gruppe. Dies deckt sich, wie oben bereits erwähnt, mit dem Befund aus Kapitel 3.2. Hier zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen PR-Status und KM-Status. So konnten bei 22,1% der Patientinnen mit einem PR IRS von 3 oder größer disseminierte Tumorzellen im Knochenmark nachgewiesen werden, während dies bei 26,2% der Patientinnen mit einem PR IRS von 2 oder kleiner der Fall war. Fehm et al. fanden ebenfalls einen Zusammenhang zwischen dem PR- und dem DTZ-Status.⁹⁶ Am meisten positive Knochenmarkbefunde waren in der HER2-positiven Gruppe mit 27,9% zu verzeichnen. In Kapitel 3.2 zeigte sich, dass bei Patientinnen mit positivem HER2-Status deutlich häufiger DTZ auftraten (27,9%) als bei solchen mit negativen HER2-Status (22,6%).

Insgesamt sind diese Ergebnisse statistisch signifikant ($p=0,028$) und legen einen Zusammenhang zwischen intrinsischem Tumorsubtyp und KM-Status nahe.

Die Unterscheidung der beiden luminal-like Subtypen mittels PR IRS bei einem Cut-off von 2,5 scheint zielführend zu sein.

4.2.2 Unterscheidung nach Oncotype Recurrence Score

Der Oncotype DX Test erwies sich ebenfalls als hilfreich bei der weiteren Unterteilung der luminal-like Tumoren in luminal A und B bzw. bei der Auswahl jener hormonrezeptorpositiven Patientinnen, die von einer Chemotherapie profitieren.^{20, 52}

Die 44 Patientinnen, bei denen der Oncotype DX Test durchgeführt bzw. die Unterscheidung zwischen luminal A und B durch den Recurrence Score (Cut-off 25,5) vorgenommen wurde, zeigten ebenfalls deutliche Unterschiede in der Häufigkeit von DTZ im Knochenmark zwischen luminal A und B Tumoren. Es konnte bei einem von 4 als luminal B klassifizierten Fällen DTZ nachgewiesen

werden, während dies bei einem von 34 luminal A Tumoren der Fall war. Keine der Patientinnen der Subtypen HER2-positiv und triple-negativ wiesen DTZ auf. Diese Ergebnisse sind statistisch zwar nicht signifikant ($p=0,232$), was aber vor allem auch durch die geringe Fallzahl bedingt sein könnte.

4.2.3 Unterscheidung nach Ki-67

Auch der Proliferationsmarker Ki-67 zeigte sich in verschiedenen Untersuchungen als unabhängiger Prognosefaktor und wird neben aggressivem Tumorwachstum auch mit schlechteren Prognosen bezüglich des Gesamtüberlebens sowie des rezidivfreien Überlebens in Verbindung gebracht.^{45, 46}

In dieser Untersuchung an insgesamt 73 Patientinnen, davon 63 als luminal-like klassifizierte, zeigten sich deutliche Unterschiede im KM-Status zwischen den Patientinnen mit hohem und niedrigem Ki-67 Wert (Cut-off 17,5%). So traten DTZ in 3 von 47 (6,4%) der luminal A Fälle auf, während diese bei 2 von 16 (12,5%) der luminal B Fälle nachgewiesen wurden.

Diese Unterschiede sind statistisch nicht signifikant bei einem p-Wert von 0,087, allerdings muss auch hier die geringe Fallzahl berücksichtigt werden. Möglicherweise steht Ki-67 daher mit einem positiven KM-Status in Zusammenhang, da Wachstumsfaktoren eine frühe hämatogene Tumorzellaussaat begünstigen könnten. So könnten luminal-like Patientinnen mit ansonsten geringem Risiko möglicherweise von einer zusätzlichen adjuvanten Therapie profitieren, wenn sie erhöhte Ki-67 Werte aufweisen.

4.3 Überleben und Rezidivierung (Prognose)

4.3.1 Überleben und Rezidivierung in Abhängigkeit vom DTZ-Status

Der Nachweis von DTZ hat sich in vielen Studien als unabhängiger Faktor für eine schlechtere Prognose im Vergleich zu Patientinnen ohne DTZ gezeigt.^{24, 75, 76, 87, 105, 106, 107, 108} Dies gilt sowohl für das rezidivfreie Überleben als auch das Gesamtüberleben.^{24, 105, 106, 107} Somit könnte der DTZ-Status dazu dienen, Patientinnen mit hohem Risiko zu erkennen und zu behandeln, die nach den klassischen Kriterien zur Einschätzung der Prognose nicht als solche erkannt worden wären.

Dies kann durch die eigenen Ergebnisse bestätigt werden. Beim rezidivfreien Überleben trat in der DTZ-negativen Gruppe seltener (7,9%) ein Rezidiv auf als in der positiven Gruppe (11,7%). Auch war das mittlere rezidivfreie Überleben in der negativen Gruppe im Schnitt um etwa 7 Monate länger. Diese Unterschiede sind gemäß des Log-Rank Tests statistisch signifikant ($p=0,001$).

Ähnliche Ergebnisse liegen beim Gesamtüberleben vor. Patientinnen mit erbrachtem DTZ-Nachweis im Knochenmark verstarben wesentlich häufiger innerhalb der untersuchten Zeit (14,4%) als Patientinnen, bei denen keine DTZ nachgewiesen werden konnten (8,5%).

Auch war ihre durchschnittliche Überlebenszeit mit 100 Monaten länger als bei Patientinnen mit positivem KM-Status (94 Monate) ($p<0,001$).

Demnach korreliert ein positiver KM-Status signifikant mit einer schlechteren Prognose.

4.3.2 Überleben und Rezidivierung in Abhängigkeit vom intrinsischen Subtyp

Wie in Kapitel 4.2 ausgeführt unterscheiden sich die einzelnen intrinsischen Subtypen nicht nur in ihrer Genexpression und damit im biologischen Verhalten des Tumors, sondern dementsprechend auch in der Prognose.^{35, 101, 102, 104}

Die Analyse des eigenen Patientenkollektivs, in dem die Einteilung der Subtypen nach den in Kapitel 2.2 beschriebenen Kriterien durchgeführt wurde, bestätigt dies.

In der luminal A Gruppe traten am wenigsten Rezidive auf (7,1%), deutlich häufiger bei luminal B (9,6%) und HER2-positiv (10%) und mit Abstand am häufigsten bei triple-negativem Tumor (16,5%). Ebenfalls war das mittlere rezidivfreie Überleben in der luminal A Gruppe am längsten (129 Monate), knapp gefolgt vom HER2-positiven Typ (128 Monate). Dann folgte die triple-negative Gruppe mit 119 Monaten. Interessant ist, dass in der luminal B Gruppe durchschnittlich das kürzeste rezidivfreie Überleben festgestellt wurde (114 Monate) ($p < 0,001$). Dies zeigt die dringende Notwendigkeit, luminal-like Tumoren weiter zu unterteilen, auch hinsichtlich der adjuvanten Therapie. Beim Gesamtüberleben waren ähnliche Ergebnisse zu verzeichnen. Der Anteil der Todesfälle stellte sich wie folgt dar: luminal A 8%, luminal B 10,6%, HER2-positiv 12,1%, triple-negativ 16,7%. Diese Reihenfolge der Subtypen hatte auch beim mittleren Überleben Bestand: luminal A 101 Monate, luminal B 97 Monate, HER2-positiv 95 Monate, triple-negativ 92 Monate ($p < 0,001$).

Erwartungsgemäß schnitt der Subtyp luminal A in allen untersuchten Aspekten der Prognose am besten ab, der Subtyp triple-negativ wies die schlechteste Prognose auf. Nur das mittlere rezidivfreie Überleben war bei luminal B noch etwas kürzer. Zudem fielen relativ deutliche Unterschiede zwischen luminal A und B auf, was die hier angewandten Kriterien zur Subtypenbestimmung bekräftigt und die Bedeutung dieser Differenzierung zwischen beiden luminal-like Subtypen unterstreicht.

4.3.3 Überleben und Rezidivierung in Abhängigkeit vom DTZ-Status und intrinsischen Subtyp

Im letzten Kapitel dieser Arbeit wurde die Rezidivierung bzw. das Überleben in Abhängigkeit vom DTZ-Status und intrinsischen Subtyp untersucht.

Hierbei fiel auf, dass in der luminal A Gruppe anteilig die kleinsten Unterschiede zwischen DTZ-positiven und DTZ-negativen Patientinnen bestanden. In den Gruppen luminal B und HER2-positiv waren diese bedeutend größer. Wenn auch nicht alle Teile dieser Untersuchung statistisch signifikant sind, zeigt sich dieses Muster in ähnlicher Weise sowohl bei der Analyse der Rezidive als auch des Gesamtüberlebens. Beim Subtyp triple-negativ zeigen sich in keiner der beiden Untersuchungen statistisch signifikante Unterschiede, vielmehr ist sowohl der Anteil der Rezidive als auch der Todesfälle in der DTZ-positiven und der negativen Gruppe gleichermaßen hoch. Unter den DTZ-negativen Patientinnen mit triple-negativem Tumorsubtyp traten sogar anteilig mehr Rezidive (17%) auf als in der DTZ-positiven Gruppe (14,9%).

Dies legt nahe, dass der Tumorzell dissemination ins Knochenmark bei den intrinsischen Subtypen luminal B und HER2-positiv ein größerer Stellenwert hinsichtlich der Prognose und möglicherweise auch der adjuvanten Therapie beigemessen werden muss als bei den übrigen Subtypen luminal A und triple-negativ. Möglicherweise haben disseminierte Tumorzellen von Tumoren dieser beiden Subtypen andere Möglichkeiten, um zu überleben und zu proliferieren, um letztlich zu einem Tochtergeschwür zu werden.

5 Zusammenfassung

Brustkrebs ist, auch wenn bei der Primärdiagnose durch ein klassisches Staging keine Metastasen oder Lymphknotenbefall (N0M0) festgestellt werden können, eine systemische Erkrankung, die bei einigen dieser Patientinnen durch die frühe, hämatogene Streuung einzelner Tumorzellen zu einem Rezidiv führen kann. Außerdem zeigte sich, dass Mammakarzinome relevante Unterschiede in ihrer Biologie aufweisen, die über die Parameter hinaus gehen, die ein klassisches Staging umfasst. Diese intrinsischen Subtypen, erstmals von Perou et al.¹⁷ beschrieben, erfordern eine an den entsprechenden Subtyp angepasste Therapie und liefern Informationen über die Prognose der Erkrankung im jeweiligen Einzelfall.

Ziel dieser Arbeit war es, Zusammenhänge zwischen histopathologischen Tumorparametern sowie intrinsischem Tumorsubtyp und der Tumorzell dissemination ins Knochenmark zu untersuchen. Außerdem sollte der Einfluss des DTZ-Status und des intrinsischen Subtyps auf die Prognose der Erkrankung analysiert werden.

Hierzu wurden retrospektiv die Daten von 3.756 Patientinnen mit primärem, nicht metastasiertem Mammakarzinom, die zwischen 2001 und 2015 in der Universitäts-Frauenklinik Tübingen operiert wurden, ausgewertet.

Es wurden Untersuchungen des DTZ-Status in Abhängigkeit von histopathologischen Tumorparametern, des DTZ-Status in Abhängigkeit vom intrinsischen Tumorsubtyp sowie des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Abhängigkeit vom DTZ-Status und vom intrinsischen Subtyp durchgeführt.

Dabei zeigen sich statistisch signifikante Zusammenhänge zwischen DTZ-Status und Histologie ($p=0,026$), T-Stadium ($p=0,001$), PR-Status ($p=0,006$), HER2-Status ($p=0,015$), Chemotherapie ($p=0,014$), Hormontherapie ($p=0,001$) und Bisphosphonattherapie ($p=0,001$).

Außerdem korreliert der intrinsische Subtyp mit dem DTZ-Status ($p=0,028$).

Statistisch signifikante Zusammenhänge erweisen sich auch zwischen rezidivfreiem sowie Gesamtüberleben und dem DTZ-Status sowie dem intrinsischen Subtyp.

Zusammenfassend kann man sagen, dass der DTZ-Status und der intrinsische Tumorsubtyp Korrelationen untereinander sowie zu bestimmten histopathologischen Parametern aufweisen und signifikante Auswirkungen auf die Prognose der Erkrankung haben. Sie dienen dazu, Patientinnen mit einem höheren Risiko zu identifizieren und gegebenenfalls zusätzlich adjuvant zu behandeln. Die Mechanismen der Tumorzell dissemination müssen weiter untersucht werden, um die Therapie noch besser an die jeweiligen Gegebenheiten des einzelnen Falles anpassen zu können.

6 Literaturverzeichnis

- 1 Krebs in Deutschland 2009/2010.
9. Ausgabe. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg). Berlin, 2013
- 2 Blot WJ, Fraumeni JF, Stone BJ (1977. b)
Geographic patterns of breast cancer in the United States.
J. Natl. Cancer Inst. 59:1407-1411.
- 3 Tyczynski JE, Bray F, Parkin D (2002)
Breast Cancer in Europe Fact Sheet, European Network of Cancer Registries ENCR
- 4 Krebs in Deutschland, Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. in Zusammenarbeit mit dem RKI. 5. überarbeitete, aktualisierte Ausgabe, Saarbrücken, 2006
- 5 Statistisches Bundesamt, Pressemitteilung Nr. 048 vom 03.02.2011
- 6 Mortalität in der EU, Statistik kurz gefasst 2, 2004, ISSN 1024-4379.
- 7 Beckmann MW, Fasching PA, Weiss JM, Ortmann O. (2003)
Update Primäres Mammakarzinom.
Geburtshilfe und Frauenheilkunde 63(24): 65-92.
- 8 Statistisches Bundesamt - Pressemitteilung vom 22. März 2005
- 9 Statistisches Bundesamt- Pressemitteilung vom 15. September 2006
- 10 Schmidt-Matthiesen H, Bastert G [Hrsg.] (2002)
Gynäkologische Onkologie.
Schattauer Verlag, Stuttgart, 7. neu bearb.und erw. Auflage 2002
- 11 Kreienberg R, Volm T, Mabus V, Alt D (Hrsg.) (2002)
Management des Mammakarzinoms.
Springer-Verlag, Berlin, 2. Auflage 2002, 183-191
- 12 Honrado E, Benítez J, Palacios J (2005)
The pathology of hereditary breast cancer.
Hered Cancer Clin Pract. 2004 Jul 15;2(3):131-8.

- 13 Ripperger T, Gadzicki D, Meindl A, Schlegelberger B (2009)
Breast cancer susceptibility: current knowledge and implications for genetic counselling
European Journal of Human Genetics 17, 722–731
- 14 Colditz GA, Graham A, Rosner B (2000)
Cumulative Risk of Breast Cancer to Age 70 Years According to Risk Factor Status: Data from the Nurses' Health Study.
American Journal of Epidemiology 152 (10): 950–964.
- 15 Beral, V (1997)
Breast Cancer and Hormone Replacement Therapy: Collaborative Reanalysis of Data from 51 Epidemiological Studies of 52 705 Women with Breast Cancer and 108 411 Women Without Breast Cancer.
The Lancet 350 (9084): 1047–1059.
- 16 Scheurer LK (2013)
Der prognostische Wert von klinischen Parametern und Tumoreigenschaften für einen metastatischen Befall von axillären Non-Sentinel-Lymphknoten beim Mammakarzinom
Universität Tübingen
- 17 Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluge O, Pergamenschikov A, Williams C, Zhu SX, Lonning PE, Borresen-Dale AL, Brown PO, Botstein D (2000)
Molecular portraits of human breast tumours.
Nature 406: 747-752
- 18 Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Hellmans S (1996)
Diseases of the breast (Prognostic and predictive factors).
Lippincott-Raven Verlag, 1. Auflage 1996: 461-485.
- 19 Duffy KT, McAleer MF, Davidson WR, Kari L, Kari C, Liu CG, Farber SA, Cheng KC, Mest JR, Wickstrom E, Dicker AP, Rodeck U (2005)
Coordinate control of cell cycle regulatory genes in zebrafish development tested by cyclin D1 knockdown with morpholino phosphorodiamidates and hydroxypropyl-phosphono peptide nucleic acids.
Nucleic acids research 33(15): 4914-4921
- 20 Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thürlimann B, Senn HJ; Panel members (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.
Annals of Oncology 24 (9): 2206-2223

- 21 Wittekind Ch, Meyer H-J, Bootz F (2002)
TNM Klassifikation maligner Tumoren
TNM-Atlas, UICC 6. Auflage, Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, New York (2002)
- 22 Volpi A, De Paola F, Nanni O, Granato AM, Bajorko P, Becciolini A, Scarpi E, Riccobon A, Balzi M, Amadori D (2000)
Prognostic significance of biologic markers in node-negative breast cancer patients: a prospective study.
Breast Cancer Res Treat. 63 (3): 181-92.
- 23 Cowen D, Houvenaeghel G, Jacquemier J, Resbeut M, Largillier R, Bardou VJ, Viens P, Maraninchi O (1998)
Local recurrences after conservative treatment of breast cancer: risk factors and influence on survival.
Cancer Radiother. 2 (5): 460-8.
- 24 Diel IJ, Kaufmann M, Costa SD, Holle R, von Minckwitz G, Solomayer EF, Kaul S, Bastert G (1996)
Micrometastatic breast cancer cells in bone marrow at primary surgery: prognostic value in comparison with nodal status.
J Natl Cancer Inst 88: 1652-1658
- 25 Diel IJ, Cote RJ (2000)
Bone marrow and lymph node assessment for minimal residual disease in patients with breast cancer.
Cancer Treat Rev 26: 53-65
- 26 Kasimir-Bauer S, Oberhoff C, Schindler AE, Seeber S (2002)
A summary of two clinical studies on tumor cell dissemination in primary and metastatic breast cancer: Methods, prognostic significance and implication for alternative treatment protocols (Review).
Int J Oncol 20: 1027-34
- 27 Molino A, Pelosi G, Turazza M, Sperotto L, Bonetti A, Nortilli R, Fattovich G, Alaimo C, Piubblo Q, Pavanel F, Mocchiolo R, Cetto LG (1997)
Bone marrow micrometastases in 109 breast cancer patients: Correlations with clinical and pathological features and prognosis.
Breast Cancer Res Treat 42: 23-30
- 28 Rakowsky E, Klein B, Kahan E, Derazne E, Lurie H.(1992)
Prognostic factors in node-positive operable breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy.
Breast Cancer Res Treat. 21(2): 121-3

- 29 Bilik R, Mor C, Wolloch Y, Dintsman M (1986)
Histopathologic High Risk Factors Influencing the Prognosis of Patients with Early Breast Cancer (T1N0M0).
American Journal of Surgery 151 (4): 460–464
- 30 Obermair A, Czerwenka K, Kurz C, Kaider A, Sevelde P (1994)
Tumor Vascular Invasion in Breast Carcinoma. Hematoxylin-eosin Versus Immunohistochemical Staining for Factor VIII Antigen.
Deutsche Medizinische Wochenschrift 119 (44) (November 4): 1491–1496
- 31 Contesso G, Mouriesse H, Friedman S, Genin J, Sarrazin D, Rouesse J (1987)
The importance of histologic grade in long-term prognosis of breast cancer: a study of 1,010 patients, uniformly treated at the Institut Gustave-Roussy.
J Clin Oncol. 5 (9): 1378-86.
- 32 Page DL, Jensen RA, Simpson JF (1998)
Routinely available indicators of prognosis in breast cancer.
Breast Cancer Res Treat. 51(3): 195-208.
- 33 Heywang-Köbrunner SH, Schreer I, Decker T, Böcker W (2003)
Interdisciplinary consensus on the use and technique of vacuum-assisted stereotactic breast biopsy.
Eur J Radiol. 47(3):232-6.
- 34 Chrapusta SJ, Giermek J, Pieńkowski T (2004)
Longterm survival in primary breast cancer: correlation with estrogen and progesterone receptor assay results and adjuvant tamoxifen therapy.
Med. Sci. Monit. 10 (10), S. CR577-86.
- 35 Hu Z, Fan C, Oh DS, Marron JS, He X, Qaqish BF, Livasy C, Carey LA, Reynolds E, Dressler L, Nobel A, Parker J, Ewend MG, Sawyer LR, Wu J, Liu Y, Nanda R, Tretiakova M, Ruiz Orrico A, Dreher D, Palazzo JP, Perreard L, Nelson E, Mone M, Hansen H, Mullins M, Quackenbush JF, Ellis MJ, Olopade OI, Bernard PS, Perou CM (2006)
The molecular portraits of breast tumors are conserved across microarray platforms.
BMC Genomics. 7:96
- 36 Oh DS, Troester MA, Usary J, Hu Z, He X, Fan C, Wu J, Carey LA, Perou CM (2006)
Estrogen-regulated genes predict survival in hormone receptor-positive breast cancers.
J Clin Oncol. 24(11):1656–1664

- 37 Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn HJ; Panel members (2011)
Strategies for Subtypes—dealing with the Diversity of Breast Cancer: Highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011.
Annals of Oncology 22 (8): 1736–1747.
- 38 Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL (1987)
Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene.
Science. 235:177–82
- 39 Figueroa-Magalhães MC, Jelovac D, Connolly R, Wolff AC (2014)
Treatment of HER2-Positive Breast Cancer.
Breast 23.2: 128–136.
- 40 Press MF, Pike MC, Chazin VR, Hung G, Udove JA, Markowicz M, Danyluk J, Godolphin W, Sliwkowski M, Akita R, et al. (1993)
Her-2/neu expression in node-negative breast cancer: direct tissue quantitation by computerized image analysis and association of overexpression with increased risk of recurrent disease.
Cancer Res. 53(20): 4960-70
- 41 Spector N, Xia W, El-Hariry I, Yarden Y, Bacus S (2007)
HER2 therapy. Small molecule HER-2 tyrosine kinase inhibitors
Breast Cancer Res. 9(2): 205.
- 42 Hartkopt AD et. al.
Onkologie heute 5/2011; 18-20
- 43 Turzynski A
cerbB2 Score
in: Internetseite Pathologen-Lübeck,
URL: http://www.pathologen-luebeck.de/Methoden/Immunhistologie/Antikorper/Her2_neu/her2_neu.html
[Zugriff am 15.06.2016]
- 44 Domagala W, Markiewski M, Harezga B, Dukowicz A, Osborn M (1996)
Prognostic significance of tumor cell proliferation rate as determined by the MIB-1 antibody in breast carcinoma: its relationship with vimentin and p53 protein.
Clin Cancer Res. 2(1):147–154

- 45 Trihia H, Murray S, Price K, Gelber RD, Golouh R, Goldhirsch A, Coates AS, Collins J, Castiglione-Gertsch M, Gusterson BA; International Breast Cancer Study Group (2003)
Ki-67 expression in breast carcinoma: its association with grading systems, clinical parameters, and other prognostic factors—a surrogate marker?
Cancer 97(5):1321–1331
- 46 de Azambuja E, Cardoso F, de Castro G Jr, Colozza M, Mano MS, Durbecq V, Sotiriou C, Larsimont D, Piccart-Gebhart MJ, Paesmans M (2007)
Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12,155 patients.
Br J Cancer 96(10):1504–1513.
- 47 Cheang MC, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, Watson M, Davies S, Bernard PS, Parker JS, Perou CM, Ellis MJ, Nielsen TO (2009)
Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer.
J Natl Cancer Inst 101: 736–750.
- 48 Guiu S, Michiels S, André F, Cortes J, Denkert C, Di Leo A, Hennesy BT, Sorlie T, Sotiriou C, Turner C, Van de Vijver M, Viale G, Loi S, Reis-Filho JS (2012)
Molecular subclasses of breast cancer: how do we define them? The IMPAKT 2012 Working Group Statement.
Annals of Oncology 23: 2997–3006
- 49 Paik S, Tang G, Shak S, Kim C, Baker J, Kim W, Cronin M, Baehner FL, Watson D, Bryant J, Costantino JP, Geyer CE Jr, Wickerham DL, Wolmark N (2006)
Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer.
J Clin Oncol. 24(23):3726-34.
- 50 Sinn P, Aulmann S, Wirtz R, Schott S, Marmé F, Varga Z, Lebeau A, Kreipe H, Schneeweiss A (2013)
Multigene Assays for Classification, Prognosis, and Prediction in Breast Cancer: a Critical Review on the Background and Clinical Utility.
Geburtshilfe Frauenheilkd. 73(9):932-940
- 51 Paik S, Shak S, Tang G, Kim C, Baker J, Cronin M, Baehner FL, Walker MG, Watson D, Park T, Hiller W, Fisher ER, Wickerham DL, Bryant J, Wolmark N (2004)
A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer.
N Engl J Med. 351(27):2817-26

- 52 Paik S, Tang G, Shak S, Kim C, Baker J, Kim W, Cronin M, Baehner FL, Watson D, Bryant J, Costantino JP, Geyer CE Jr, Wickerham DL, Wolmark N (2006)
Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer.
J Clin Oncol 24: 3726–3734
- 53 Albain KS¹, Barlow WE, Shak S, Hortobagyi GN, Livingston RB, Yeh IT, Ravdin P, Bugarini R, Baehner FL, Davidson NE, Sledge GW, Winer EP, Hudis C, Ingle JN, Perez EA, Pritchard KI, Shepherd L, Gralow JR, Yoshizawa C, Allred DC, Osborne CK, Hayes DF; Breast Cancer Intergroup of North America (2010)
Prognostic and predictive value of the 21-gene recurrence score assay in postmenopausal women with node-positive, oestrogen-receptor-positive breast cancer on chemotherapy: a retrospective analysis of a randomised trial
Lancet Oncol. 11(1):55-65.
- 54 Wong WW, Vijayakumar S, Weichselbaum RR (1992)
Prognostic Indicators in Node-negative Early Stage Breast Cancer.
The American Journal of Medicine 92 (5) (May): 539–548.
- 55 Hosseini H, Obradović MM, Hoffmann M, Harper KL, Sosa MS, Werner-Klein M, Nanduri LK, Werno C, Ehrl C, Maneck M, Patwary N, Haunschild G, Gužvić M, Reimelt C, Grauvogl M, Eichner N, Weber F, Hartkopf AD, Taran FA, Brucker SY, Fehm T, Rack B, Buchholz S, Spang R, Meister G, Aguirre-Ghiso JA, Klein CA (2016)
Early dissemination seeds metastasis in breast cancer
Nature. 2016 Dec 14. doi: 10.1038/nature20785.
- 56 Braun S, Vogl FD, Naume B, Janni W, Osborne MP, Coombes RC, Schlimok G, Diel IJ, Gerber B, Gebauer G, Pierga JY, Marth C, Oruzio D, Wiedswang G, Solomayer EF, Kundt G, Strobl B, Fehm T, Wong GY, Bliss J, Vincent-Salomon A, Pantel K (2005)
A pooled analysis of bone marrow micrometastasis in breast cancer.
N Engl J Med. 25;353(8):793-802.
- 57 Fehm T, Müller V, Alix-Panabières C, Pantel K (2008)
Micrometastatic spread in breast cancer: detection, molecular characterization and clinical relevance. Breast Cancer Research : BCR, 10(Suppl 1), S1.
- 58 Krawczyk N (2010)
Bestimmung des ER α -Status von disseminierten Tumorzellen im Knochenmark bei Patientinnen mit primärem Mammakarzinom.
Universität Tübingen

- 59 Hartkopf AD (2014)
The impact of single tumour cell dissemination on individualized systemic breast cancer treatment.
Universität Tübingen
- 60 Banys M, Hartkopf AD, Krawczyk N, Kaiser T, Meier-Stiegen F, Fehm T, Neubauer H (2012)
Dormancy in breast cancer.
Breast Cancer: Targets and Therapy 4: 183–191.
- 61 Aguirre-Ghiso JA (2007)
Models, mechanisms and clinical evidence for cancer dormancy.
Nat Rev Cancer. 7(11):834–846.
- 62 Hussein O, Komarova SV (2001)
Breast cancer at bone metastatic sites: recent discoveries and treatment targets.
J Cell Commun Signal. 5(2):85–99.
- 63 Wiedswang G, Borgen E, Karesen R, Qvist H, Janbu J, Kvalheim G, Nesland JM, Naume B (2004)
Isolated tumor cells in bone marrow three years after diagnosis in disease-free breast cancer patients predict unfavorable clinical outcome.
Clin Cancer Res 10(16): 5342-8.
- 64 Janni W, Rack B, Schindlbeck C, Strobl B, Rjosk D, Braun S, et al. (2005).
The persistence of isolated tumor cells in bone marrow from patients with breast carcinoma predicts an increased risk for recurrence.
Cancer 103(5): 884-91.
- 65 Becker S, Solomayer E, Becker-Pergola G, Wallwiener D, Fehm T (2007)
Primary systemic therapy does not eradicate disseminated tumor cells in breast cancer patients.
Breast Cancer Res Treat. 106(2):239–243.
- 66 Meng S, Tripathy D, Frenkel EP, Shete S, Naftalis EZ, Huth JF, Beitsch PD, Leitch M, Hoover S, Euhus D, Haley B, Morrison L, Fleming TP, Herlyn D, Terstappen LW, Fehm T, Tucker TF, Lane N, Wang J, Uhr JW (2004)
Circulating tumor cells in patients with breast cancer dormancy.
Clin Cancer Res. 15;10(24): 8152-62.
- 67 Becker S, Becker-Pergola G, Wallwiener D, Solomayer EF, Fehm T (2006)
Detection of cytokeratin-positive cells in the bone marrow of breast cancer patients undergoing adjuvant therapy.
Breast Cancer Res Treat. 97(1):91–96.

- 68 Townson JL, Chambers AF (2006)
Dormancy of solitary metastatic cells.
Cell Cycle. 5(16):1744–1750.
- 69 Naumov GN, Akslen LA, Folkman J (2006)
Role of Angiogenesis in Human Tumor Dormancy: Animal Models of the
Angiogenic Switch.
Cell Cycle 5:16, 1779-1787
- 70 Indraccolo S, Favaro E, Amadori A (2006)
Dormant tumors awakened by a short-term angiogenic burst: the spike
hypothesis.
Cell Cycle 5(16):1751-5.
- 71 Hussein O, Komarova SV (2001)
Breast cancer at bone metastatic sites: recent discoveries and treatment
targets.
J Cell Commun Signal. 5(2):85–99.
- 72 Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R (1982)
The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal
epithelia, tumors and cultured cells.
Cell 31(1): 11-24
- 73 Fehm T, Braun S, Muller V, Janni W, Gebauer G, Marth C, Schindlbeck
C, Wallwiener D, Borgen E, Naume B, Pantel K, Solomayer E (2006)
A concept for the standardized detection of disseminated tumor cells in
bone marrow from patients with primary breast cancer and its clinical
implementation.
Cancer 107:885–892.
- 74 Borgen E, Naume B, Nesland JM, Kvalheim G, Beiske K, Fodstad O,
Diel I, Solomayer EF, Theocharous P, Coombes RC, Smith BM, Wunder
E, Marolleau JP, Garcia J, Pantel K (1999)
Standardization of the immunocytochemical detection of cancer cells in
BM and blood: I. establishment of objective criteria for the evaluation of
immunostained cells.
Cytotherapy. 1999;1(5):377-88.
- 75 Mansi JL, Gogas H, Bliss JM, Gazet J-C, Berger U, Coombes RC (1999)
Outcome of primary -breast-cancer patients with micrometastases: a
long-term follow-up study.
Lancet 354: 197-202

- 76 Gerber B, Krause A, Muller H, Richter D, Reimer T, Makovitzky J, Herrnring C, Jeschke U, Kundt G, Friese K (2001)
Simultaneous immunohistochemical detection of tumor cells in lymph nodes and bone marrow aspirates in breast cancer and its correlation with other prognostic factors.
J Clin Oncol 19:960-971.
- 77 Kroman N, Jensen M-B, Wohlfart J, Mouridsen HT, Andersen PK, Melbye M (2000)
Factors influencing the effect of age on prognosis in breast cancer: population based study.
BMJ 320: 474-478
- 78 Chung M, Chang HR, Bland KI, Wanebo HJ (1996)
Younger women with breast carcinoma have a poorer prognosis than older women.
Cancer 77:97–103.
- 79 Winchester DP, Osteen RT, Menck HR (1996)
The national cancer data base report on breast carcinoma characteristics and outcome in relation to age.
Cancer 78:1838–1843.
- 80 Albain KS, Allred DC, Clark GM (1994)
Breast cancer outcome and predictors of outcome: are there age differentials?
Monogr Natl Cancer Inst. (16):35–42.
- 81 Harbeck N, Untch M, Pache L, Eiermann W (1994)
Tumour cell detection in the bone marrow of breast cancer patients at primary therapy: Results of a 3-year median follow-up.
Br J Cancer 69: 566-571
- 82 Janni W, Gastroph S, Hepp F, Kentenich C, Rjosk D, Schindlbeck C, Dimpfl T, Sommer H, Braun S (2000)
Prognostic significance of an increased number of micrometastatic tumor cells in the bone marrow of patients with first recurrence of breast carcinoma.
Cancer 88: 2252-2259
- 83 Bossert SN (2005)
Immunzytochemischer Tumorzellnachweis im Knochenmark in Abhängigkeit histomorphologischer und prognostischer Kriterien beim primären Mammakarzinom
Universität Ulm

- 84 Berger U1, Bettelheim R, Mansi JL, Easton D, Coombes RC, Neville AM (1988)
The relationship between micrometastases in the bone marrow, histopathologic features of the primary tumor in breast cancer and prognosis.
Am J Clin Pathol 90: 1-6
- 85 Solomayer EF, Diel IJ, Salanti G, Hahn M, Gollan C, Schütz F, Bastert G (2001)
Time independence of the prognostic impact of tumor cell detection in the bone marrow of primary breast cancer patients.
Clin Cancer Res 7: 4102-4108
- 86 Nemoto T, Vana J, Bewani RN (1980)
Management and survival of female breast cancer: results of a national survey by the American College of Surgeons.
Cancer 45: 2917-2924
- 87 Braun S, Pantel K, Müller P, Janni W, Hepp F, Kentenich CR, Gastroph S, Wischnik A, Dimpfl T, Kindermann G, Riethmüller R, Schlimok G (2000c)
Cytokeratin-positive cells in the bone marrow and survival of patients with stage I, II or III breast cancer.
N Engl J Med 342: 525-533
- 88 Ceci G, Franciosi V, Nizzoli R, De Lisi V, Lottici R, Boni C, Di Blasio B, Passalacqua R, Guazzi A, Cocconi G (1988)
The value of bone marrow biopsy in breast cancer at time of diagnosis.
Cancer 61: 96-98
- 89 Naume B, Borgen E, Kvalheim G, Karesen R, Qvist H, Sauer T, Kumar T, Nesland JM (2001)
Detection of isolated tumor cells in bone marrow in early-stage breast carcinoma patients. Comparison with preoperative clinical parameters and primary tumor characteristics.
Clin Cancer Res 7: 4122-4129
- 90 Pantel K, Cote Rj, Fodstad O (1999)
Detection and clinical importance of micrometastatic disease.
J Natl Cancer Inst 91: 1113-1124
- 91 Landys K, Persson S, Kovaric J, Hultborn R, Holmberg E (1998)
Prognostic value of bone marrow biopsy in operable breast cancer patients at the time of initial diagnosis : Results of a 20-year median follow-up.
Breast Cancer Res Treat 49: 27-33

- 92 Braun S, Cevatli BS, Assemi C, Janni W, Kentenich CR, Schindlbeck C, Rjosk D, Hepp F (2001)
Comparative analysis of micrometastasis to the bone marrow and lymph nodes of node-negative breast cancer patients receiving no adjuvant therapy.
J Clin Oncol 19: 1468-1475
- 93 Braun S, Cevatli BS, Assemi C, Janni W, Kentenich CR, Schindlbeck C, Rjosk D, Hepp F (2001)
Comparative analysis of micrometastasis to the bone marrow and lymph nodes of node-negative breast cancer patients receiving no adjuvant therapy.
J Clin Oncol 19(5):1468–1475
- 94 Carter CL, Allen C, Henson DE (1989)
Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases.
Cancer 63: 181-187
- 95 Clark GM (1996)
Prognostic and predictive factors.
In: Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Hellman S (eds): Disease of the breast. Lippincott-Raven, Philadelphia: p 462
- 96 Fehm T, Becker S, Pergola-Becker G, Kramer B, Gruber I, Sotlar K, Kurek R, Wallwiener D, Solomayer E (2004)
Influence of tumor biological factors on tumor cell dissemination in primary breast cancer.
Anticancer Res. 24(6):4211-6.
- 97 Fisher B, Redmond C, Fisher ER, Caplan R (1988)
Relative worth of estrogen or progesterone receptor and pathologic characteristics of differentiation as indicators of prognosis in node negative breast cancer patients: Findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-06.
J Clin Oncol 6:1076-1087
- 98 Rutsch MT (1995)
Prognosefaktoren beim operablen Mammakarzinom: Histologisches Grading versus Hormonrezeptorstatus.
Inaugural-Dissertation der Medizinischen Fakultät der Universität Zürich
- 99 Slamon JD, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DD, Levin WJ, Stuart SG, Udove J, Ullrich A, Press MF (1989)
Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast cancer and ovarian cancer.
Science 244: 707-712

- 100 Rack B, Jückstock J, Günthner-Biller M, Andergassen U, Neugebauer J, Hepp P, Schoberth A, Mayr D, Zwingers T, Schindlbeck C, Friese K, Janni W (2012)
Trastuzumab clears HER2/neu-positive isolated tumor cells from bone marrow in primary breast cancer patients.
Arch Gynecol Obstet. 285(2):485-92.
- 101 Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, Deng S, Johnsen H, Pesich R, Geisler S, Demeter J, Perou CM, Lønning PE, Brown PO, Børresen-Dale AL, Botstein D (2003)
Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets.
Proc Natl Acad Sci USA 100: 8418–8423
- 102 Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, Hastie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Thorsen T, Quist H, Matese JC, Brown PO, Botstein D, Lønning PE, Børresen-Dale AL (2001)
Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications.
Proc Natl Acad Sci USA 98: 10869–10874
- 103 Prat A, Cheang MC, Martín M, Parker JS, Carrasco E, Caballero R, Tyldesley S, Gelmon K, Bernard PS, Nielsen TO, Perou CM (2013)
Prognostic significance of progesterone receptor-positive tumor cells within immunohistochemically defined luminal A breast cancer.
J Clin Oncol 31: 203–209
- 104 Park S, Koo JS, Kim MS, Park HS, Lee JS, Lee JS, Kim SI, Park BW (2011)
Characteristics and outcomes according to molecular subtypes of breast cancer as classified by a panel of four biomarkers using immunohistochemistry.
Breast 21: 50–57.
- 105 Gebauer G, Fehm T, Merkle E, Beck EP, Lang N, Jager W (2001)
Epithelial cells in bone marrow of breast cancer patients at time of primary surgery: clinical outcome during long-term follow-up.
J Clin Oncol 19:3669-3674.
- 106 Braun S, Vogl FD, Naume B, Janni W, Osborne M, Coombes RC, Schlimok G, Diel I, Gerber B, Gebauer G, Pierga J-Y, Marth C, Oruzio D, Wiedswang G, Solomayer E-F, Kundt G, Strobl B, Fehm T, Wong GYC, Bliss J, Vincent-Salomon A, Pantel K (2005)
International pooled analysis of prognostic significance of bone marrow micrometastasis in patients with stage I, II, or III breast cancer.
N Engl J Med 353:793-802.

- 107 Wiedswang G, Borgen E, Karesen R, Kvalheim G, Nesland JM, Qvist H, Schlichting E, Sauer T, Janbu J, Harbitz T, Naume B (2003)
Detection of isolated tumor cells in bone marrow is an independent prognostic factor in breast cancer.
J Clin Oncol 21:3469-3478.
- 108 Pierga JY, Bonneton C, Vincent-Salomon A, de Cremoux P, Nos C, Blin N, Pouillart P, Thiery JP, Magdelenat H (2004)
Clinical significance of immunocytochemical detection of tumor cells using digital microscopy in peripheral blood and bone marrow of breast cancer patients.
Clin Cancer Res 10:1392-1400.
- 109 Hartkopf AD, Taran FA, Wallwiener M, Hahn M, Becker S, Solomayer EF, Brucker SY, Fehm TN, Wallwiener D (2014)
Prognostic relevance of disseminated tumour cells from the bone marrow of early stage breast cancer patients - results from a large single-centre analysis.
Eur J Cancer 50(15):2550-9
- 110 Nurali I (2009)
Histopathologische und biologische Prognosefaktoren für den immunzytologischen Nachweis von Tumorzellen im Knochenmark beim Mammakarzinom
Universität Tübingen

7 Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift

Die Arbeit wurde in der Universitäts-Frauenklinik Tübingen unter Betreuung von Prof. F. A. Taran durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Prof. Hartkopf und Prof. Taran.

Die vorhandenen Rohdaten habe ich durch Lektüre von elektronischen Patientenakten ergänzt und für die statistische Auswertung formatiert.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Anleitung durch Prof. Hartkopf durch mich.

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Tübingen, den _____

Danksagung

Ich möchte meiner Familie für alle erdenkliche Unterstützung während der Promotion danken.

Meinem Doktorvater Prof. Dr. Taran und ganz besonders meinem Betreuer Prof. Dr. Hartkopf danke ich für die jederzeit kompetente, schnelle und unkomplizierte Unterstützung

