

**Diplomarbeit**

**Evaluierung der Häufigkeit der BRCA1/2  
Mutationen in einer retrospektiven Kohortenstudie  
in der Hochsteiermark**

eingereicht von

**Sabrina Knöblreiter**

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktorin der gesamten Heilkunde  
(Dr.<sup>in</sup> med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt an der

**Geburtshilflich-Gynäkologischen Abteilung  
Landeskrankenhaus Hochsteiermark Standort Leoben**

unter der Anleitung von

**Univ. Prof.<sup>in</sup> Priv. Doz.<sup>in</sup> Dr.<sup>in</sup> Florentia Peintinger**

Leoben, am 02. März 2018

### *Eidesstattliche Erklärung*

*Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.*

*Leoben, am 02. März 2018*

*Sabrina Knöblreiter e.h.*

## Danksagungen

Zu Beginn möchte ich mich bei meiner Diplomarbeitsbetreuerin

**Univ. Prof.<sup>in</sup> Priv. Doz.<sup>in</sup> Dr.<sup>in</sup> Florentia Peintinger** vielmals für die Unterstützung bedanken. Mit ihrer herzlichen Art stand sie mir mit Rat und Tat zur Seite und unterstützte mich bei meiner Arbeit auf allen Ebenen. Mit ihrer überragenden fachlichen und sozialen Kompetenz wird sie mir stets ein großes Vorbild sein.

An zweiter Stelle bedanke ich mich bei dem Vorstand der Gynäkologischen Abteilung des LKH Hochsteiermark Standort Leoben,

**Prim. Priv. Doz. Dr. Thomas Aigmüller** für die Erlaubnis, meine Diplomarbeit an seiner Abteilung zu verfassen, **OA Dr. Armin Tamegger** für das Bereitstellen weiterer PatientInnenakten und **Univ. Prof. Dr. Michael Speicher** ( Vorstand des Instituts für Humangenetik der Medizinischen Universität Graz) sowie

**Univ. Prof. Dr. Christian Singer** ( Leiter des Zentrums für familiären Brust- und Eierstockkrebs AKH Wien), für die Erlaubnis, die Ergebnisse der genetischen Testungen zu analysieren.

Ich bedanke mich bei **Dr. Christoph Schweighofer** und Ulrike Mayer, die mich besonders am Ende meines Studiums immer wieder mit unterhaltsamen Anekdoten motivierten.

Ein besonderer Dank gilt meinem Papa Kurt, der mir das Medizinstudium erst ermöglicht hat, stets an mich geglaubt hat und immer für mich da war, sowie meiner Mama Herta, die mich als mein Schutzengel durch das Studium führte.

Meiner Familie und allen Freunden, die mich durch die Studienzeit begleitet haben, insbesondere meinen Tanten Helga und Sieglinde, sowie den beiden Sprachgenies Dr.<sup>in</sup> Nora Gspaltl und Herbert Pauli, möchte ich ebenfalls herzlich danken.

Den zwei wichtigsten Menschen in meinem Leben, Andreas und Maximilian, die mir stets die Liebe, Kraft und Energie schenken, meine Träume zu verwirklichen, gilt mein allergrößter Dank. Ich liebe euch.

## Zusammenfassung

**Einleitung:** Das hereditäre Mamma- und Ovarialkarzinomsyndrom (HBOC) wird am häufigsten durch eine BRCA1/2 Mutation verursacht. Etwa 10-20% dieser BRCA Mutationen sind Varianten unbestimmter Signifikanz (VUS), deren Pathogenität und das daraus resultierende Risiko, an einem Mammakarzinom zu erkranken, derzeit nicht sicher zugeordnet werden kann.

**PatientInnen und Methoden:** In einer retrospektiven Kohortenstudie wurden 180 Personen im Brustgesundheitszentrum des LKH Hochsteiermark Standort Leoben genetisch beraten und im Institut für Humangenetik, Med. Univ. Graz oder an der Abteilung für spezielle Gynäkologie im AKH Wien auf eine mögliche Genmutation entsprechend der bestehenden Selektionskriterien getestet. Die Daten wurden aus den genetischen Befunden und den elektronischen Krankenakten der Testpersonen entnommen und digitalisiert. Die Häufigkeiten von BRCA1/2 Mutationen und VUS wurden analysiert und graphisch dargestellt. Verschiedene Parameter wie Tumorstadium, Erkrankungsalter, sowie histopathologische Parameter der Mammakarzinome (Differenzierungsgrad, Rezeptorstatus und Ki67-Index) und deren Assoziation mit einer BRCA Mutation wurden ausgewertet. Insgesamt wurden 135 Fälle für weitere Querschnittsanalysen herangezogen.

**Ergebnisse:** Bei 22 Testpersonen (16,3%) zeigte sich eine BRCA1 Mutation und bei 14 Personen (10,4%) eine BRCA2 Mutation. Im PatientInnenkollektiv konnten 22 VUS (16,3%) ermittelt werden. 88 PatientInnen (65,1%) waren zum Zeitpunkt der genetischen Testung an einem Mammakarzinom erkrankt, davon 50% der BRCA1 und 78,6% der BRCA2 MutationsträgerInnen. BRCA1 MutationsträgerInnen zeigten mit durchschnittlich 43,3 Jahren ein jüngeres Erkrankungsalter als Personen mit einem sporadischen Mammakarzinom (Mittleres Erkrankungsalter= 46,1 Jahre). Die Analyse der histopathologischen Parameter zeigte, dass 72,7% der BRCA1 MutationsträgerInnen ein niedrig differenziertes Mammakarzinom mit einem höheren Ki67-Index (Durchschnitt 48%) aufweisen im Vergleich zu sporadischen Karzinomen (Durchschnitt 24%). Ebenso waren BRCA1 assoziierte Mammakarzinome mit 54,5% häufiger triple negativ (Hormon- und Her2 Rezeptor negativ) als sporadische Karzinome (29,4%).

**Diskussion:** BRCA1/2 Mutationen und VUS können mittels moderner Technologie identifiziert werden. VUS repräsentieren im Gegensatz zu BRCA1/2 Genveränderungen mit unklarer Pathogenität und stellen dadurch eine große Herausforderung bei genetischen Beratungen dar. Die Archivierung, Nachbeobachtung und eventuell die Testwiederholung dieser Fälle wird unter Berücksichtigung der technischen Weiterentwicklung zu einer Herausforderung in der Vorsorge und Früherkennung des Mammakarzinoms.

## Abstract

**Introduction:** The Hereditary Breast and Ovarian Cancer Syndrome (HBOC) is most commonly caused by a BRCA1/2 mutation. Approximately 10-20% of these BRCA mutations are variants of uncertain significance (VUS) and their pathogenicity and the consequential mammarian carcinoma risk cannot currently be defined unambiguously.

**Patients and Methods:** In a retrospective cohort study, 180 persons were genetically advised at the Breast Department of the State Hospital in Leoben and genetically tested for a possible gene mutation, according to the existing selection criteria, at the Institution of Human Genetics in Graz or the Department of Special Gynecology in Vienna. Data were taken from the genetic reports and the electronic medical files of the patients. The frequency distribution of BRCA mutations and VUS was analyzed and graphically displayed. Various parameters like tumor stage, age of onset, differentiation grade, receptor status and Ki67-index and their association with a BRCA mutation were evaluated. A total of 135 cases were used for further cross-sectional evaluations.

**Results:** A BRCA1 mutation was detected in 22 persons (16,3%) and a BRCA2 mutation in 14 persons (10,4%). A total of 22 VUS (16,3%) could be determined. 88 persons (65,1%) were diagnosed with a mammary carcinoma at the time of the genetic testing, including 50% of the BRCA1 and 78,6% of the BRCA2 mutation carriers. The average age of onset of the BRCA1 mutation carriers (M=43,3 years) was lower compared to patients with sporadic carcinomas (M= 46,1 years). The analysis of the histopathological parameters revealed that 72,7% of the BRCA1 mutation carriers had a low differentiated carcinoma with a higher Ki67-index (48%) than that of the sporadic carcinomas (24%). Furthermore, the BRCA1 associated mammarian carcinomas were more often triple negative (ER/PR/Her2 negative) (54,5%) than the sporadic carcinomas (29,4%).

**Discussion:** BRCA1/2 mutations and VUS can be identified by modern technology. In contrast to BRCA1/2 mutations VUS represent gene alterations with an unclear pathogenicity and still pose a major challenge in genetic counseling. The archiving, follow-up and if necessary the test repetition of these cases will be a great challenge in the prevention and early detection of mammarian carcinomas.

# Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung.....	III
Abstract.....	V
Inhaltsverzeichnis.....	VI
Glossar und Abkürzungen.....	VIII
Abbildungsverzeichnis.....	IX
Tabellenverzeichnis.....	X
1 Einleitung.....	11
1.1 Epidemiologie des Mammakarzinoms in Österreich.....	12
1.2 Histopathologie und Staging des Mammakarzinoms.....	14
1.3 Risikofaktoren des Mammakarzinoms.....	18
1.3.1 Risikofaktoren: Alter, Fortpflanzung und Hormone.....	18
1.3.2 Risikofaktoren: Lebensstil und Strahlung.....	19
1.3.3 Risikofaktoren: Vorerkrankung, familiäre Prädisposition und Genetik.....	20
1.4 Das hereditäre Mammakarzinom.....	21
1.5 Brustkrebsgenmutationen mit hoher Penetranz.....	22
1.5.1 BRCA1.....	22
1.5.2 BRCA2.....	23
1.5.3 BRCA1/2 Mutationen und assoziiertes Tumorrisiko.....	25
1.5.4 HBOC Syndrom und Tumorcharakteristika.....	27
1.5.5 TP53, PTEN, STK11, CDH1.....	29
1.6 Mutationen mit moderater/niedriger Penetranz.....	31
1.6.1 Single Nucleotide Variants/Polymorphism (SNP).....	32
1.7 Genvarianten mit unspezifischer Signifikanz.....	33
1.7.1 Datenbanken und Arbeitsgruppen.....	34
1.8 Genetische Beratung und Testung und bei BRCA1/2 Mutationen.....	35
1.8.1 Prognose und Langzeitüberleben.....	39
1.9 Therapiekonzepte bei BRCA assoziiertem Mammakarzinom.....	40
2 Material und Methoden.....	42
2.1 Studienaufbau und Kernfragen.....	42
2.2 Datenaufbau.....	42
2.3 Erhobene Daten.....	44

2.4	Ein- und Ausschlusskriterien .....	45
2.5	Statistische Auswertungen .....	45
3	Ergebnisse .....	46
3.1	Allgemeine Analyse des PatientInnenkollektivs .....	46
3.2	Erkrankungsstatus und Karzinomart .....	50
3.3	Genetische Testungen .....	52
3.3.1	BRCA1 Mutationen .....	54
3.3.2	BRCA2 Mutationen .....	55
3.3.3	Varianten unbestimmter Signifikanz (VUS).....	56
3.4	Mammakarzinom und BRCA Mutation .....	58
3.4.1	Häufigkeit der Mammakarzinome und Mutationsstatus .....	58
3.4.2	Erkrankungsalter und Mutationsstatus .....	59
3.5	Histopathologische Parameter und BRCA Mutation.....	60
3.5.1	Differenzierungsgrad der Mammakarzinome .....	60
3.5.2	Stadien der Mammakarzinome .....	61
3.5.3	Ki67 Wert und Rezeptorstatus der Mammakarzinome .....	63
4	Diskussion.....	65
4.1	Mutationshäufigkeiten und Erkrankungsalter .....	65
4.2	Tumorcharakteristika.....	66
4.3	Korrelationsanalysen.....	67
4.4	Varianten unbestimmter Signifikanz und klinische Relevanz .....	68
5	Literaturverzeichnis .....	70

## Glossar und Abkürzungen

A.	Arteria
AD	Autosomal dominant
BMI	Body Mass Index
BRCA1/2 Gen	Breast Cancer Gene
BRCT	BRCA1 C-Terminal Domain
CDH1	Cadherin 1
CIMBA	Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2
CIS	Carcinoma in situ
CSC	Cancer Stem Cells
DCIS	Duktales Carcinoma in situ
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EGF	Epidermal Growth factor
ENIGMA	Evidence-based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles
ER	Estrogen-receptor
GIT	Gastrointestinaltrakt
GTG	Gentechnikgesetz
HER2	Human Epidermal Growth factor-receptor
IGF	Insulin-like Growth factors
kB	Kilobase
LK	Lymphknoten
MIB-1	Molecular Immunology Borstel Antikörper
MLPA	Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification
NBN	Nibrin
PCR	Polymerase Chain Reaction
PR	Progesteron-receptor
PTEN	Phosphatase and Tensin Homolog
RAD	Human Recombination/Repair Protein
RING	Really Interesting New Gene
RT-PCR	Reverse Transcription- Polymerase Chain Reaction
STK11	Serine/Threonine Kinase
TDLU	Terminal Ductal Lobular Unit
TP53	Tumorprotein p53
WHO	World Health Organisation
5JÜR	5 Jahres Überlebensrate

# Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Geschlechterspezifische Aufteilung der Mammakarzinome in der Steiermark 2014 .....	13
Abbildung 2 Molekulare Subtypen des Mammakarzinoms .....	16
Abbildung 3 TNM Klassifikation des Mammakarzinoms .....	17
Abbildung 4 Aufbau der Gene BRCA1/2 .....	23
Abbildung 5 Komplexes Zusammenspiel von BRCA1/2 und anderen Genen bei DNA Reparaturmechanismen .....	24
Abbildung 6 Durchschnittliche Aufteilung molekularer Subtypen bei BRCA1/2 Mutationen und sporadischen Mammakarzinomen .....	28
Abbildung 7 Klassifikation genetischer Varianten unbestimmter Signifikanz .....	33
Abbildung 8 Altersverteilung der Testpersonen.....	47
Abbildung 9 Prozentuelle Aufteilung der genetischen Befunde.....	48
Abbildung 10 Ergebnisse genetischer Testungen im BGZ Leoben 2010-2017. ...	49
Abbildung 11 Erkrankungsstatus der Testpersonen zum Zeitpunkt der Testung.	51
Abbildung 12 Testergebnisse im PatientInnenkollektiv. ....	52

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Inzidenz des Mammakarzinoms der Frauen in Österreich 2014 .....	12
Tabelle 2 Histologische Subtypen des invasiven Mammakarzinoms .....	15
Tabelle 3 Karzinomrisiko bei BRCA1/2 Mutation und histopathologische Besonderheiten .....	26
Tabelle 4 Übersicht der hochpenetranten Mammakarzinomgene .....	30
Tabelle 5 Selektionskriterien zur molekulargenetischen Testung von BRCA1/2 .	36
Tabelle 6 Screening Empfehlungen bei bekanntem HBOC Syndrom .....	38
Tabelle 7 Geschlechterspezifische Aufteilung der Testpersonen. ....	46
Tabelle 8 Häufigkeitsverteilung der BRCA1/2 Mutationen.....	53
Tabelle 9 BRCA1 Mutationen im PatientInnenkollektiv. ....	54
Tabelle 10 BRCA2 Mutationen im PatientInnenkollektiv. ....	55
Tabelle 11 Varianten unbestimmter Signifikanz im PatientInnenkollektiv. ....	57
Tabelle 12 Erkrankungsalter und Häufigkeit bilateraler Karzinome bei BRCA1/2 Mutation.....	59
Tabelle 13 Grade und Tumorstadien im PatientInnenkollektiv. ....	62
Tabelle 14 Rezeptorstatus und Ki67 im PatientInnenkollektiv. ....	64

# 1 Einleitung

Die Auswertungen der Global Health Estimates der WHO (2013) ergaben, dass 2011 weltweit ca. 508.000 Frauen aufgrund eines Mammakarzinoms starben. Somit ist das Mammakarzinom immer noch die häufigste bösartige Tumorerkrankung der Frau [1]. In den westlichen Ländern erkrankt jede achte bis zehnte Frau an Brustkrebs. Das entspricht einer Inzidenz von ca. 50.000 Frauen pro Jahr [5].

Durch Früherkennungsmaßnahmen, den dadurch meist in Frühstadien diagnostizierten Karzinomen und den immer besseren adjuvanten Therapieoptionen sank die Mortalität in der westlichen Welt. [1],[3],[4].

Anhand altersstandardisierter Raten (ASR) lassen sich die Inzidenz und Mortalität des Mammakarzinoms zwischen einzelnen Ländern vergleichen [6].

Das Risiko eines neugeborenen Mädchens, bis zum Alter von 75 Jahren an Brustkrebs zu erkranken, ist mit 10-12% relativ hoch. Daher ist die Prävention dieser häufigen Erkrankung ein sehr wichtiger Bestandteil der Gesundheitspolitik geworden [7].

## 1.1 Epidemiologie des Mammakarzinoms in Österreich

In Österreich ist das Mammakarzinom mit etwa 30% aller Tumore die häufigste Krebserkrankung der Frau und mit 16% aller Krebstodesfälle die häufigste Krebstodesursache der Frau [3]. Tabelle 1 zeigt die Inzidenz des Mammakarzinoms der Frauen in Österreich im Jahr 2014 und die Aufteilung in den jeweiligen Bundesländern.

*Tabelle 1 Inzidenz des Mammakarzinoms der Frauen in Österreich 2014 [3],[4].*

Bundesland	Bösartige Neubildungen gesamt	Inzidenz Mammakarzinom
Wien	3724	1133 (30,42%)
Niederösterreich	3647	1057 (28,98%)
Oberösterreich	2487	705 (28,35%)
Steiermark	3113	878 (28,20%)
Tirol	1681	470 (27,96 %)
Kärnten	1500	432 (28,80%)
Salzburg	1139	342 (30,03%)
Vorarlberg	730	225 (30,82%)
Burgenland	526	148 (28,14%)
<b>Österreich gesamt</b>	<b>n= 18547</b>	<b>n= 5390</b>

Im Vergleich zum Jahr 1997 (n=234) betrug die Inzidenz von in situ Karzinomen (CIS) in Österreich im Jahr 2014 (n=853) und auch die Diagnose von lokalisierten Tumoren der Brust stieg von 2218 auf 2745 aufgrund immer besserer Früherkennungsmaßnahmen an.

Die Anzahl der diagnostizierten regionalen (1997: n=1463; 2014: n=1214) und fortgeschrittenen Mammakarzinome (1997: n=392; 2014: n=272) ist in den Jahren 1997-2014 gesunken [4]. Es können also immer häufiger Frühformen des Mammakarzinoms diagnostiziert werden.

Die ASR der Inzidenz des Mammakarzinoms betrug in der Steiermark im Jahr 2014 130,2/100.000 für Frauen und 3,0/100.000 für Männer. In absoluten Zahlen erkrankten im Jahr 2014 in der Steiermark 878 Frauen und 16 Männer an einem Mammakarzinom. Das entspricht 28,2% bzw. 0,5% aller dokumentierten malignen Erkrankungen in der Steiermark [3],[4]. (Abbildung 1)

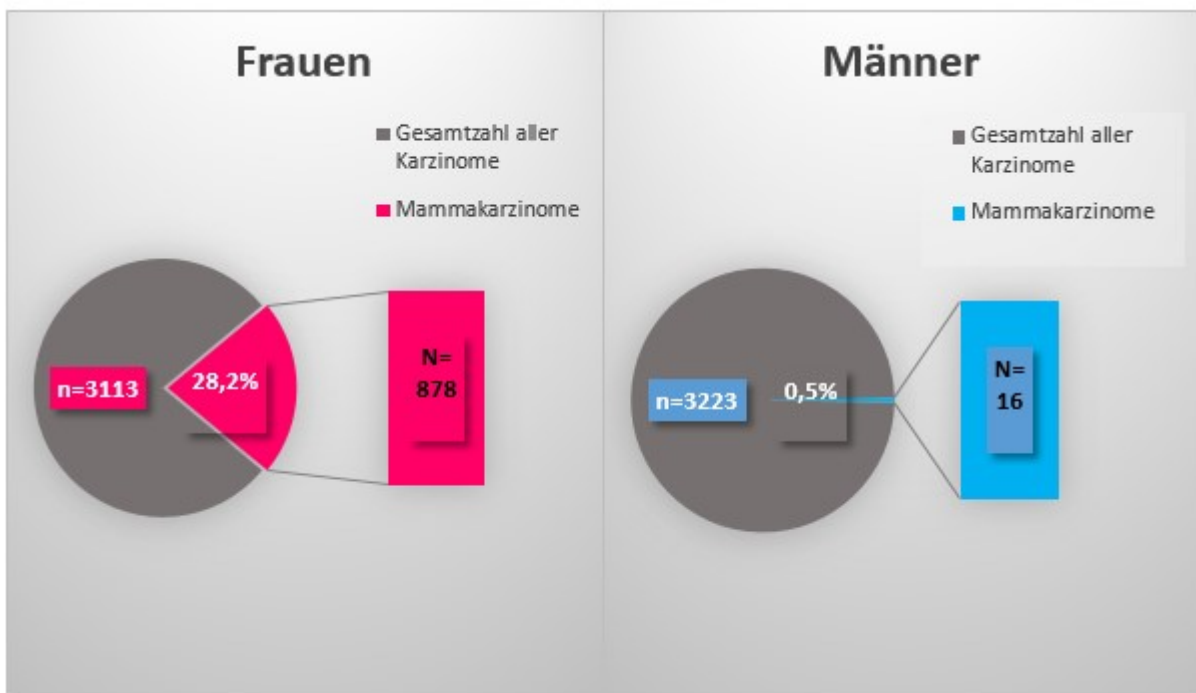


Abbildung 1 Geschlechterspezifische Aufteilung der Mammakarzinome in der Steiermark 2014 [3],[4].

Laut dem österreichischen Bundesministerium für Gesundheit und Frauen wird die jährliche Inzidenz des Mammakarzinoms in allen 9 Bundesländern in Österreich bis 2030 aufgrund des zunehmenden Alters der weiblichen Bevölkerung weiter um etwa 10% steigen. Gemäß der demographischen Entwicklung wäre eigentlich ein Anstieg um ca. 18% zu erwarten. Die Mortalität wird laut Prognosen weiter rückläufig sein und bis zum Jahr 2030 um etwa 8% sinken [4].

## 1.2 Histopathologie und Staging des Mammakarzinoms

Adenokarzinome repräsentieren den größten Anteil (95%) der Mammakarzinome und entstammen der duktulo-lobulären Einheit (TDLU) [8],[9]. Mikroskopisch lassen sich zwei Typen grob unterscheiden:

- das von den Drüsen ausgehende duktales Karzinom
- das von den Läppchen ausgehende lobuläre Karzinom [9].

Zum weiteren unterscheidet man Vorläuferläsionen, die auf das Epithel begrenzt sind (in situ), von invasiven, in das Stroma eindringenden Karzinomen [9],[10].

Das Risiko aus einem duktalem Carcinoma in situ (DCIS) eine invasive Form zu entwickeln, ist direkt proportional zum Differenzierungsgrad der Vorläuferläsion [9]. Das lobuläre Carcinoma in situ (LCIS) galt bisher nur als Risikofaktor, nicht aber als direkte Vorläuferläsion invasiver Karzinome [9],[13]. Es tritt in etwa 70% der Fälle multizentrisch und in etwa 40% der Fälle bilateral auf. Meist wird das LCIS im Rahmen von Biopsien zufällig entdeckt [9]. Laut der neuesten WHO Klassifikation gelten jedoch, sowohl das DCIS als auch das LCIS, als direkte Vorläuferläsionen [11].

Das invasive Mammakarzinom kann in verschiedene histologische Subtypen unterteilt werden (Tabelle 2). Das invasive Karzinom vom nicht speziellen Typ (NST) ist mit etwa 40-80% der häufigste histopathologische Typ des Mammakarzinoms [8],[9],[11].

Tabelle 2 Histologische Subtypen des invasiven Mammakarzinoms [9],[11].

Subtyp	Charakteristik	Häufigkeit
<b>Klassisches invasiv duktales Karzinom (NST)</b>	viele morphologische Variationen	~40-75%
<b>lobuläres Karzinom</b>	meist ältere Frauen, häufig multizentrisch+bilateral, 5 histologische Subtypen	~2%
<b>tubuläres Karzinom</b>	sehr gute Prognose, selten Lymphknotenmetastasen, meist ältere Frauen	~2%
<b>kribriiformes Karzinom</b>	sehr gute Prognose, meist low-grade Karzinome, meist älteren Frauen	~0,8-3,5%
<b>medulläres Karzinom</b>	lymphozytäres Infiltrat, häufig bei BRCA1 Mutationen, gute Prognose, axilläre Lymphknoten häufig betroffen	<5%
<b>metaplastisches Karzinom</b>	Areale mit Plattenepithel bzw. mesenchymaler Differenzierung, typischerweise Triple negativ	<1%
<b>muzinöses Karzinom</b>	gute Prognose, meist ältere Frauen, typische Schleimproduktion	~2%
<b>Karzinom mit apokriner Differenzierung</b>	oft G3 mit schlechter Prognose, häufig Androgenrezeptor- und HER2 positiv	~1-4%
<b>Karzinom mit neuroendokriner Differenzierung</b>	morphologisch und immunhistochemisch dem NET der Lunge und des GIT ähnlich, häufig postmenopausal	~2%
<b>papilläres Karzinom</b>	häufig postmenopausal, gute Prognose	~1-2%
<b>mikropapilläres Karzinom</b>	hohes Risiko für Lokalrezidive und Lymphknotenmetastasen, häufig Befall der Haut, schlechte Prognose	~2%
andere sehr seltene Formen: inflammatorisches, adenoidzystisches, lipidreiches, juveniles, onkozytäres und Azinuszellkarzinom		

Durch die mikroskopische Beurteilung der Mitosefrequenz, der Kernpleomorphie sowie der Drüsen- und Tubulusbildung lassen sich drei Differenzierungsgrade (G1-G3) unterscheiden.

Zum weiteren werden die invasiven Mammakarzinome anhand molekularbiologischer Parameter in molekulare Subtypen (intrinsische Subtypen) eingeteilt [10]. Diese werden mittels Immunhistochemie bestimmt und fungieren als prognostische/prädiktive Marker. Dabei zeigt sich ein positiver Östrogenrezeptor (ER+) in etwa bei 80%, ein positiver Progesteronrezeptor (PR+) in etwa bei 60-70%, sowie eine Überexpression/Amplifikation des HER2 Onkoproteins (HER2+) in etwa 15% der Mammakarzinome. Etwa 20-25% der Mammakarzinome sind Hormonrezeptor negativ [8],[10]. Ca.15% aller invasiven Mammakarzinome sind triple negativ [9].

Zusätzlich wird der Prozentsatz des Proliferationsaktivitätsmarkers Ki67-Antigen in Tumorzellen mittels MIB-1 Antikörpermarkierung bestimmt, welcher als prädiktiver und prognostischer Marker gilt [8].

Die molekularen Subtypen haben prognostische Aussagekraft und sind Prädiktoren für das Ansprechen auf zielgerichtete Therapieoptionen [10]. (Abbildung 2)

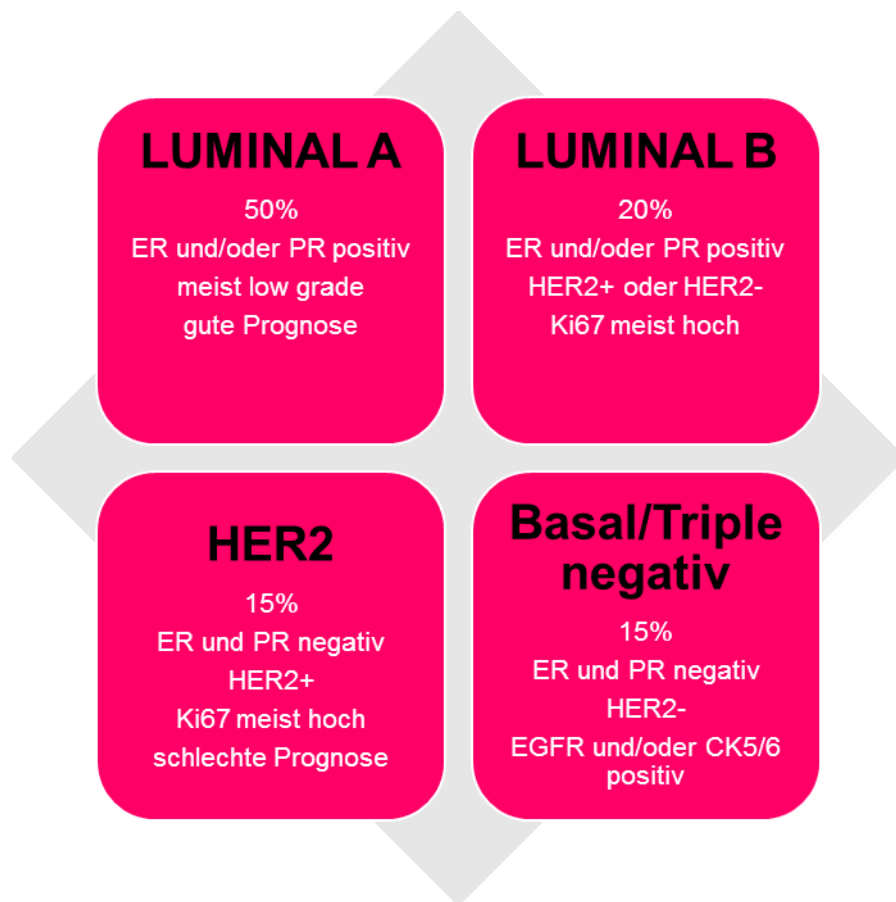


Abbildung 2 Molekulare Subtypen des Mammakarzinoms [9].

Mammakarzinome werden nach dem TNM System klassifiziert und können in 4 Stadien eingeteilt werden [12]. (Abbildung 3)

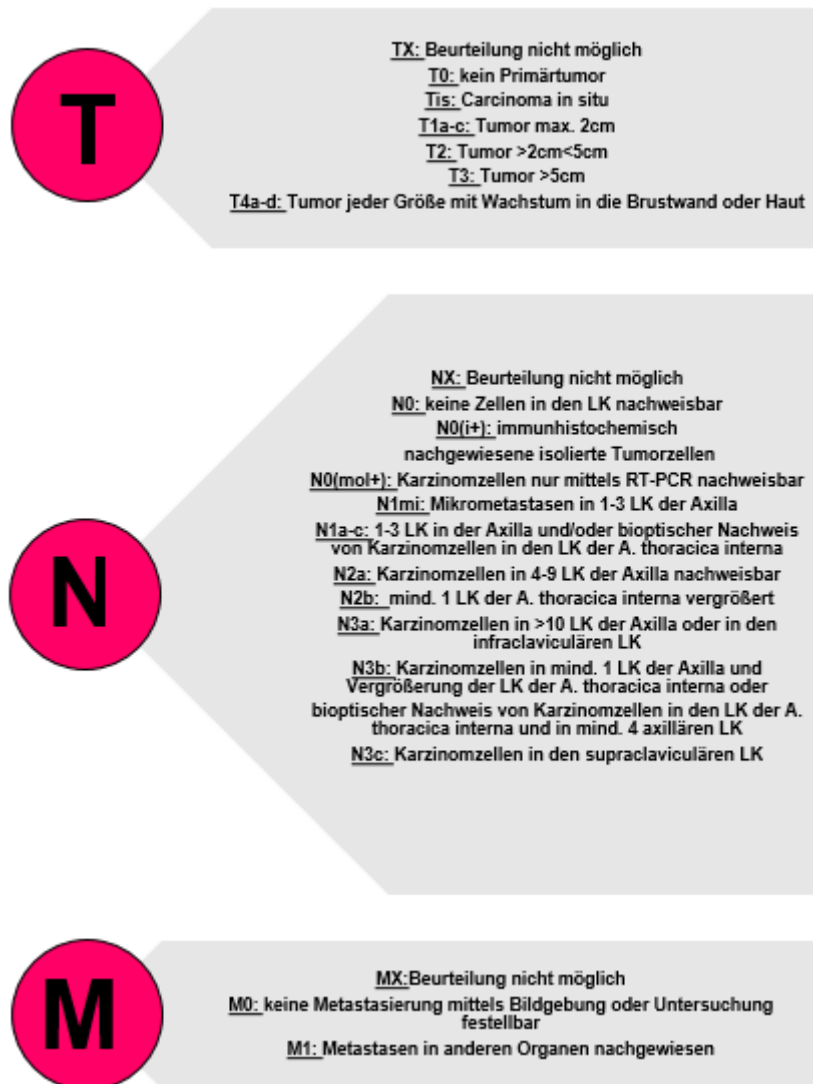


Abbildung 3 TNM Klassifikation des Mammakarzinoms [12].

## **1.3 Risikofaktoren des Mammakarzinoms**

Das Mammakarzinom ist eine multifaktorielle Erkrankung, die sowohl von Umweltfaktoren, als auch von genetischen Faktoren beeinflusst wird [14],[17]. Das Wissen über Risikofaktoren einer bösartigen Neubildung ist wichtig, um ein individuelles Risikoprofil für PatientInnen erstellen zu können. Allgemein zeigten Studien, dass die Wertigkeit eines einzelnen Risikofaktors für die Entwicklung eines Mammakarzinoms oftmals synergistisch von anderen Faktoren beeinflusst wird [13]. Besonders wichtig für die Wertung eines Risikofaktors scheint der Zeitpunkt der Exposition zu sein [17]. Die immer neueren molekulargenetischen Methoden zur Bestimmung von Tumorsubtypen werden auch zu einem besseren Verständnis der Wertigkeit einzelner Risikofaktoren führen [17]. Die einzelnen Risikofaktoren für das Mammakarzinom lassen sich in verschiedene Subgruppen unterteilen.

### **1.3.1 Risikofaktoren: Alter, Fortpflanzung und Hormone**

Das Alter ist, wie für die meisten Karzinome, einer der wichtigsten Risikofaktoren des Mammakarzinoms [13],[15],[16],[17]. Die Inzidenz des Mammakarzinoms steigt linear bis etwa zum 80. Lebensjahr an und erreicht dann ein Plateau [13]. Das mittlere Erkrankungsalter in Österreich liegt bei 61 Jahren, wobei die altersspezifische Inzidenz zwischen dem 45.-54. Lebensjahr und dann nochmals zwischen dem 65.-74. Lebensjahr stark ansteigt [2],[4].

Außerdem zeigen Frauen mit früherer Menarche sowie späterer Menopause ein höheres relatives Risiko an Brustkrebs zu erkranken.

Auch Frauen, die kein Kind oder ihr erstes Kind nach dem 30. Lebensjahr bekommen, zeigen ein erhöhtes Risiko. Ebenso scheint eine verkürzte Stillzeit das Risiko zu erhöhen [13],[14],[15],[17].

Eine über einen längeren Zeitraum durchgeführte Hormonersatztherapie erhöht das relative Risiko an Brustkrebs zu erkranken auch [13],[14]. Generell konnte immer wieder gezeigt werden, dass eine verlängerte oder erhöhte Östrogenexposition mit einem höheren Erkrankungsrisiko assoziiert ist [14],[17].

### **1.3.2 Risikofaktoren: Lebensstil und Strahlung**

Die Rolle des Rauchens als Risikofaktor für Brustkrebs konnte bis dato noch nicht vollständig geklärt werden, da einige Studien sehr kontroverse Ergebnisse in Bezug auf das aktive Rauchen zeigen. Mehrere Arbeiten führen an, dass das relative Risiko umso höher ist, je früher mit dem Rauchen begonnen wurde [16].

Ebenso steigert Alkoholkonsum das Mammakarzinomrisiko [13],[17]. Jedoch zeigten einige Studien, dass ein signifikanter Effekt erst bei einer Menge von mehr als einem alkoholischen Getränk pro Tag auftritt. Dabei ist die Art bzw. Stärke des konsumierten Alkohols nicht relevant [13].

Übergewicht bzw. ein erhöhter BMI steigert das relative Brustkrebsrisiko erst bei Frauen nach der Menopause [13],[16],[17]. Das Fettgewebe ist dann eine wichtige Östrogenquelle, weil dort die Umwandlung von Androgenen in Östrogen stattfindet [14]. Ein erhöhter BMI ist auch mit einem erhöhten Insulin und IGF Spiegel assoziiert, die mit einem erhöhten Brustkrebsrisiko in Verbindung stehen [13]. Körperliche Inaktivität erhöht das Brustkrebsrisiko in erster Linie aufgrund der daraus resultierenden Gewichtszunahme [17].

Ein weiterer Risikofaktor ist ionisierende Strahlung bzw. die Strahlentherapie oder Strahlenbelastung durch bildgebende Verfahren. Jüngere Frauen weisen ein höheres Risiko auf als ältere. Besonders hoch scheint es zu sein, wenn die Strahlungsexposition in die Zeit der Brustentwicklung fällt [13],[14].

### **1.3.3 Risikofaktoren: Vorerkrankung, familiäre Prädisposition und Genetik**

Frauen mit einem früheren invasiven Karzinom der Mamma, einem DCIS oder einer (atypischen) Hyperplasie haben ein signifikant höheres Risiko an Brustkrebs zu erkranken. Für das DCIS zeigte sich eine Inzidenzrate von etwa 28% in den nächsten 15 Jahren an einem invasiven Mammakarzinom zu erkranken [13]. Auch ein LCIS erhöht das Risiko an einem invasiven Karzinom zu erkranken [9],[13]. Im Gegensatz zur Durchschnittsbevölkerung (0,11%) erhöht sich das durchschnittliche Risiko erneut zu erkranken um 0,7-0,8% pro Jahr bei positiver Anamnese eines invasiven Mammakarzinoms [13].

Ein Mammakarzinom in der Familie, also die familiäre Prädisposition, ist ein bedeutender Risikofaktor [13],[14]. Erste Fälle von familiärem Brustkrebs wurden bereits vor 150 Jahren beschrieben. Es zeigt sich ein direkter Zusammenhang zwischen dem Risiko, selbst ein Mammakarzinom zu entwickeln und der Anzahl von Erkrankten in der Familie, dem Alter des Auftretens und dem Verwandtschaftsgrad [13].

Das relative Risiko einer Person an Brustkrebs zu erkranken, dessen Verwandter oder Verwandte 1. Grades im Alter von unter 50 erkrankte, liegt bei 3,3. Sind bereits zwei Verwandte 1. Grades erkrankt, liegt das relative Risiko bereits bei 3,6 [13]. Man spricht dann vom familiären Mammakarzinom, wenn in einer Familie gehäuft Mammakarzinome auftreten, ohne dass eine derzeit bekannte, mit dem Mammakarzinom assoziierte Genmutation, nachgewiesen werden kann.

Beim hereditären Mammakarzinom kommt es durch verschiedene Genmutationen, Polymorphismen sowie durch seltene genetische Syndrome ebenfalls zu einem erhöhten Mammakarzinomrisiko. Man unterscheidet das familiäre/hereditäre Mammakarzinom vom sogenannten sporadischen Mammakarzinom, bei welchem sich keine familiäre Häufung oder eine bestimmte Genveränderung nachweisen lässt [13].

## 1.4 Das hereditäre Mammakarzinom

5-10% aller Mammakarzinome sind hereditär, das heißt durch eine Genmutation verursacht [18],[19].

Von einem erhöhten Mammakarzinomrisiko spricht man, wenn das Lebenszeitrisiko über 20% beträgt [21]. Es gibt verschiedene computerunterstützte bzw. statistische Modelle zur Beurteilung des jeweiligen Mammakarzinomrisikos wie zBsp.: Gail, Claus, IBIS, BRCAPRO [22].

Genveränderungen, die zur Entstehung eines Mammakarzinoms führen können lassen sich generell in 2 Kategorien einteilen:

*Proto-Onkogene*, welche zu einer Verstärkung der Genaktivität (gain of function mutation) führen und Zellen zum Wachstum und zur Teilung anregen und

*Tumorsuppressorgene*, deren Funktionsverlust zu unkontrolliertem Zellwachstum und inadäquaten DNA Reparaturvorgängen führt (loss of function) [23]. Einige Gene gelten als hochpenetrant, das heißt eine Genveränderung wirkt sich mit hoher Wahrscheinlichkeit auf den Phänotyp aus und erhöht das Mammakarzinomrisiko stark (BRCA1/2, TP53, PTEN, STK11, CDH1), andere als moderat penetrant (ATM, CHEK2, BRIP1, PALB2, RAD51C/D, BARD1, NBN, RAD50) [24],[25].

Das Vererbungsrisiko setzt sich wahrscheinlich in erster Linie aus Mutationen in verschiedenen Genen mit niedriger Penetranz zusammen (Polygene Modell) [19].

Für über 50% aller hereditären Mammakarzinome kann derzeit noch keine eindeutige Mutation nachgewiesen werden und es ist eher unwahrscheinlich, dass noch andere hochpenetrante Gene identifiziert werden [19].

Die häufigsten und bekanntesten Mutationen finden sich in den BRCA Genen, welche für etwa 30% der hereditären Mammakarzinome verantwortlich sind [18].

Man spricht dann vom hereditären Brust- und Eierstockkrebsyndrom (HBOC), weil das Lebenszeitrisiko an einem Mammakarzinom und/oder einem Ovarialkarzinom zu erkranken im Gegensatz zur Durchschnittsbevölkerung stark erhöht ist [21].

In Österreich leben schätzungsweise 25.000 MutationsträgerInnen [2].

## 1.5 Brustkrebsgenmutationen mit hoher Penetranz

### 1.5.1 BRCA1

Bereits in den 90er Jahren wurde das erste Brustkrebsgen BRCA1 am langen Arm des Chromosom 17 (17q21) entdeckt [14],[19]. Kurz darauf wurde BRCA1 bereits mit einem erhöhten Ovarialkarzinomrisiko in Verbindung gebracht [14].

BRCA1 ist ein Phosphoprotein, das im Nucleus lokalisiert ist [27]. Es besteht aus 24 Exons, wovon aber nur 22 codierend sind [28]. Das Protein besteht aus 1863 Aminosäuren [14],[27],[29].

Als Tumorsuppressorgen spielt es eine wichtige Rolle im Rahmen der Transkriptionsregulation, in der Zellzykluskontrolle und dem DNA Reparaturnetzwerk, sowie in der Regulation des apoptotischen Zelltodes [14],[19],[26],[27],[29],[30]. Tumorsuppressorgene hemmen also die Proliferation von malignen Zellen, wobei erst der durch eine Mutation bedingte Ausfall beider Allele zur Inaktivierung dieser Kontrollinstanz führt [14].

Es beinhaltet eine RING Finger Domäne nahe dem N-Terminus, welcher auch mit dem BRCA1 associated Ring Domain Protein 1 (BARD1) assoziiert ist und gemeinsam den BRCA1/BARD1 Komplex bildet [23],[29]. (Abbildung 4) Weiters beinhaltet BRCA1 den „partner and localizer of BRCA2“ (PALB2) und eine Domäne am C-Terminus (BRCT), welche mit dem „BRCA1 interacting protein helicase 1“ (BRIP1) interagiert [29]. Gemeinsam mit einer Vielzahl anderer Tumorsuppressorgene bildet BRCA1 einen großen Proteinkomplex, der als DNA Überwachung fungiert [25]. (Abbildung 6)

Die zwei wichtigsten Gründermutationen (founder mutation) für BRCA1 sind 1875delAG und 5382insC, welche besonders häufig bei der Bevölkerung der aschkenasischen Juden auftreten [14],[27],[31]. Dabei handelt es sich um eine genetische Veränderung, welche mit hoher Frequenz in einer geografisch oder kulturell isolierten Gruppe auftritt. Oftmals weisen BRCA1 assoziierte Tumore ebenfalls Mutationen im TP53 Gen auf [19],[30],[43].

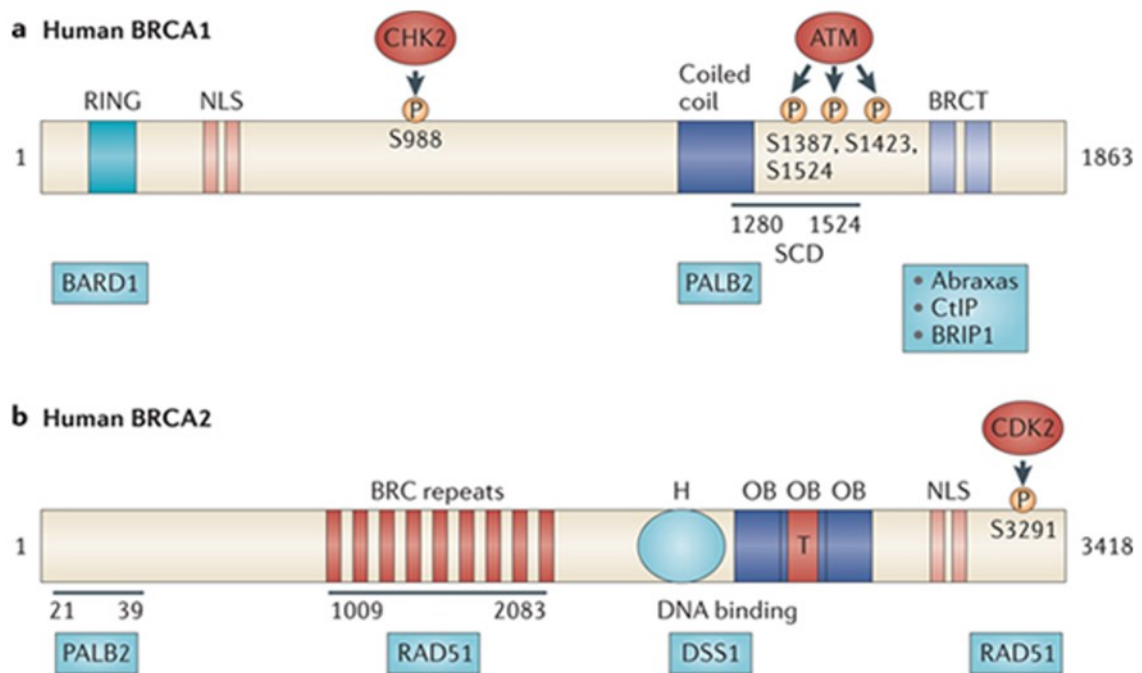


Abbildung 4 Aufbau der Gene BRCA1/2 [29].

## 1.5.2 BRCA2

Der BRCA2 Genlocus befindet sich am langen Arm auf dem Chromosom 13 (13q12-13) [14],[19]. Es enthält 70 kb an DNA und besteht aus 27 Exons [28]. Ebenso wie BRCA1 ist es ein Phosphoprotein und im Nucleus lokalisiert [27].

PALB2 bindet an den N-Terminus und führt zur besseren Stabilität von BRCA2 [23]. Es bindet sowohl an BRCA1 als auch an BRCA2 und stellt so eine direkte Verbindung zwischen den beiden Proteinen dar. (Abbildung 5)

Das BRCA2 Protein besteht aus 3418 Aminosäuren [29].

Am 3' Ende des Exons 11 befindet sich eine Ovarialkarzinom Cluster Region (OCCR). Die meisten Mutationen treten am Exon 10 und 11 auf [24].

Im zentralen Drittel von BRCA2 befinden sich 8 von Exon 11 codierte, sich wiederholende Aminosäuresequenzen, welche auch als BRC Repeats bezeichnet werden. An diese und an den C-Terminus von BRCA2 bindet RAD51 [23]. (Abbildung 4)

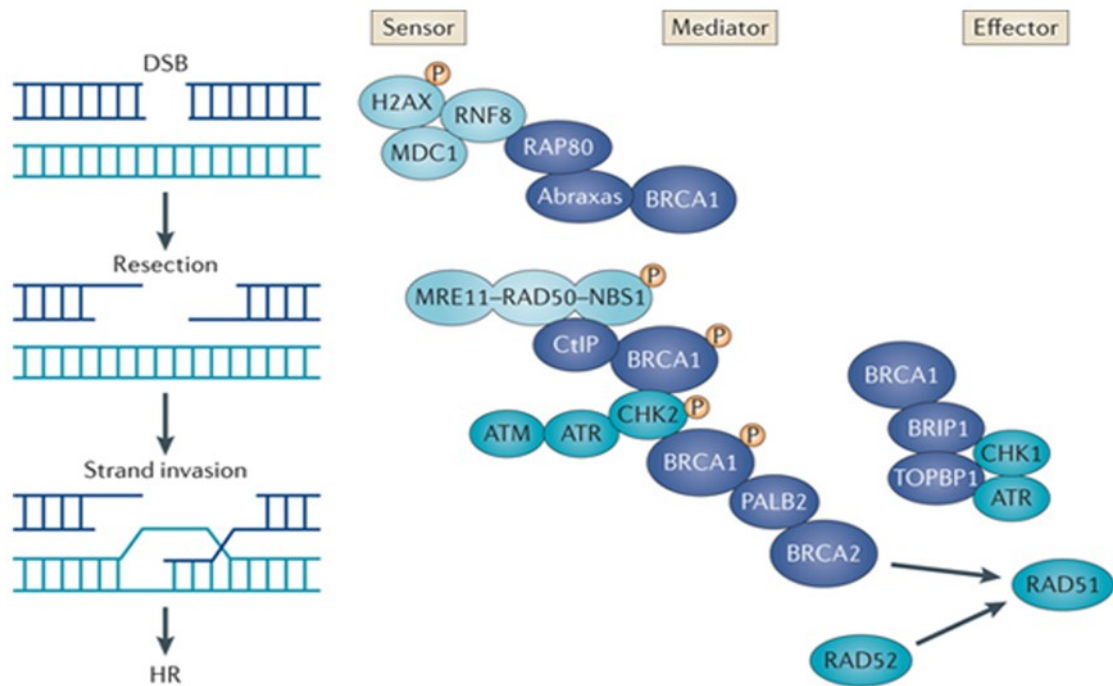


Abbildung 5 Komplexes Zusammenspiel von BRCA1/2 und anderen Genen bei DNA Reparaturmechanismen [29].

### 1.5.3 BRCA1/2 Mutationen und assoziiertes Tumorrisiko

Die Prävalenz einer **BRCA1 Mutation beträgt 1:250-300** und die einer **BRCA2 Mutation 1:800** [21]. Natürlich variiert die Prävalenz geographisch und zwischen verschiedenen ethnischen Gruppen [32]. Einige Populationen scheinen gehäuft bestimmte Mutationen aufzuweisen. Man spricht dann auch von Founder Mutationen [33].

Die Mehrzahl der BRCA Mutationen sind Keimbahnmutationen (71%) und werden autosomal dominant vererbt [27],[32]. Generell kann angenommen werden, dass Mutationen in etwa bei 12-15% aller getesteten Fälle gefunden werden [32].

Es wurden bereits Regionen auf den BRCA1/2 Genen entdeckt, welche spezifisch das Brust- oder das Ovarialkarzinomrisiko erhöhen, sogenannte Cluster Regionen (BCCR bzw. OCCR) [27],[34]. Mutationen am 5' Ende von BRCA1 und im zentralen Teil von BRCA2 führen zum Beispiel zu einem noch höheren Ovarialkarzinomrisiko [35].

BRCA1/2 haben wichtige Funktionen in der homologen Rekombination (HR), dem Prozess zur Reparatur von Doppelstrangbrüchen der DNA [28],[29]. Doppelstrangbrüche können sowohl bei der DNA Replikation als auch durch den Einfluss ionisierender Strahlung entstehen [29]. Bisher wurden bereits über 2000 Mutationsvarianten wie Deletionen, Insertionen und viele Einzelnukleotid-Polymorphismen in codierenden und nicht codierenden Regionen entdeckt [24]. Die meistens Mutationen führen zum vorzeitigen Abbruch der Proteinsynthese. Ein weiterer großer Teil sind die sogenannten Missense Mutationen, die zum Einbau einer anderen Aminosäure führen und oftmals von unspezifischer Signifikanz sind [35].

Die Tumorgenese bei MutationsträgerInnen kann mittels TWO-HIT Modell erklärt werden. Dabei folgt der hereditären Mutation des BRCA Allels eine somatische Inaktivierung des zweiten wild-type Allels [32].

Tabelle 3 zeigt die verschiedenen Karzinome, welche mit BRCA1/2 Mutationen assoziiert werden.

Tabelle 3 Karzinomrisiko bei BRCA1/2 Mutation und histopathologische Besonderheiten [2],[21],[27],[29],[36].

<b>Karzinom</b>	<b>BRCA1</b>	<b>BRCA2</b>	<b>Durchschnittsrisiko</b>
<b>Mamma</b> (Risiko bis zum 70. LJ. Frauen)	85%	84%	12%
<b>Mamma</b> (5 Jahresrisiko kontralateral)	15%	9%	2%
<b>Mamma</b> (Risiko bis zum 70. LJ. Männer)	1,2%	6,8%	0,1%
<b>ER Status</b>	80-90% neg.	60-65% pos.	
<b>PR Status</b>	meist neg.	meist pos.	
<b>HER2 Status</b>	meist neg.	meist neg.	15-20%
<b>Ovar</b> (Risiko bis zum 70. LJ. Frauen)	53%	27%	1,2%
<b>Prostata</b>	8,6%	15%	6%
<b>Pankreas</b>	1-3%	2-7%	0,5%
<b>Melanom</b>	unbekannt	erhöht	1,6%

#### 1.5.4 HBOC Syndrom und Tumorcharakteristika

Im Vergleich zu den Nicht-MutationsträgerInnen ist besonders für BRCA MutationsträgerInnen das Risiko an einem zweiten primären Mammakarzinom zu erkranken um 50% erhöht [37]. Das Erkrankungsalter der MutationsträgerInnen scheint von vielen Lebensstil und Umweltfaktoren abhängig zu sein. Eine Studie zeigte, dass Rauchen, Nullparität und orale Kontrazeptiva oftmals zu einem früheren Erkrankungsbeginn bei den BRCA MutationsträgerInnen führen [38]. Generell sind BRCA MutationsträgerInnen zum Zeitpunkt der Diagnose signifikant jünger als PatientInnen mit sporadischen Mammakarzinomen [39].

Sowohl das mediane krankheitsfreie Überleben, als auch das Gesamtüberleben, sowie Tumorgröße und Lymphknotenstatus scheinen sich in Studien nicht signifikant von sporadischen Fällen zu unterscheiden [39]. Das Risiko ein kontralaterales Karzinom zu entwickeln ist für BRCA1 MutationsträgerInnen höher als für BRCA2 MutationsträgerInnen [40].

Invasive Mammakarzinome von BRCA1/2 MutationsträgerInnen unterscheiden sich histopathologisch von Karzinomen von PatientInnen ohne bekannte Mutation [41]. Lobuläre Tumore sind häufiger mit BRCA2 Mutationen assoziiert, medulläre Tumore mit BRCA1 [42]. BRCA2 Tumore sind sehr heterogen, vorherrschender Subtyp scheint der Luminal B-Typ zu sein [41]. (Abbildung 6) BRCA1/2 assoziierte Mammakarzinome zeigen meist einen niedrigeren Differenzierungsgrad als sporadische Karzinome. Überaus selten zeigen BRCA1/2 assoziierte Mammakarzinome eine Überexpression/Amplifikation von HER2 (0-3%) [30],[36].

Große Studien vom Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2 (CIMBA), dem Breast Cancer Association Consortium (BCAC) und dem Evidence-based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles (ENIGMA) zeigten, dass ER-positive Tumore eher eine BRCA1 Mutation ausschließen und ER-negative, niedrig differenzierte Tumore eher auf eine BRCA1 Mutation hindeuten. Triple negative Tumore (TNBC) zeigen sich besonders häufig bei BRCA1 MutationsträgerInnen [41].

BRCA1/2 assoziierte Ovarialkarzinome sind histologisch häufiger niedrig differenzierte Tumore [43]. Als Teil des Ovarialkarzinomspektrums ist auch das Risiko für die Entstehung eines Tubenkarzinoms und primären Peritonealkarzinoms erhöht [44]. Bei Ovarialkarzinomen zeigt sich kein signifikanter Unterschied in der Morphologie zwischen BRCA1 und BRCA2 MutationsträgerInnen [42].

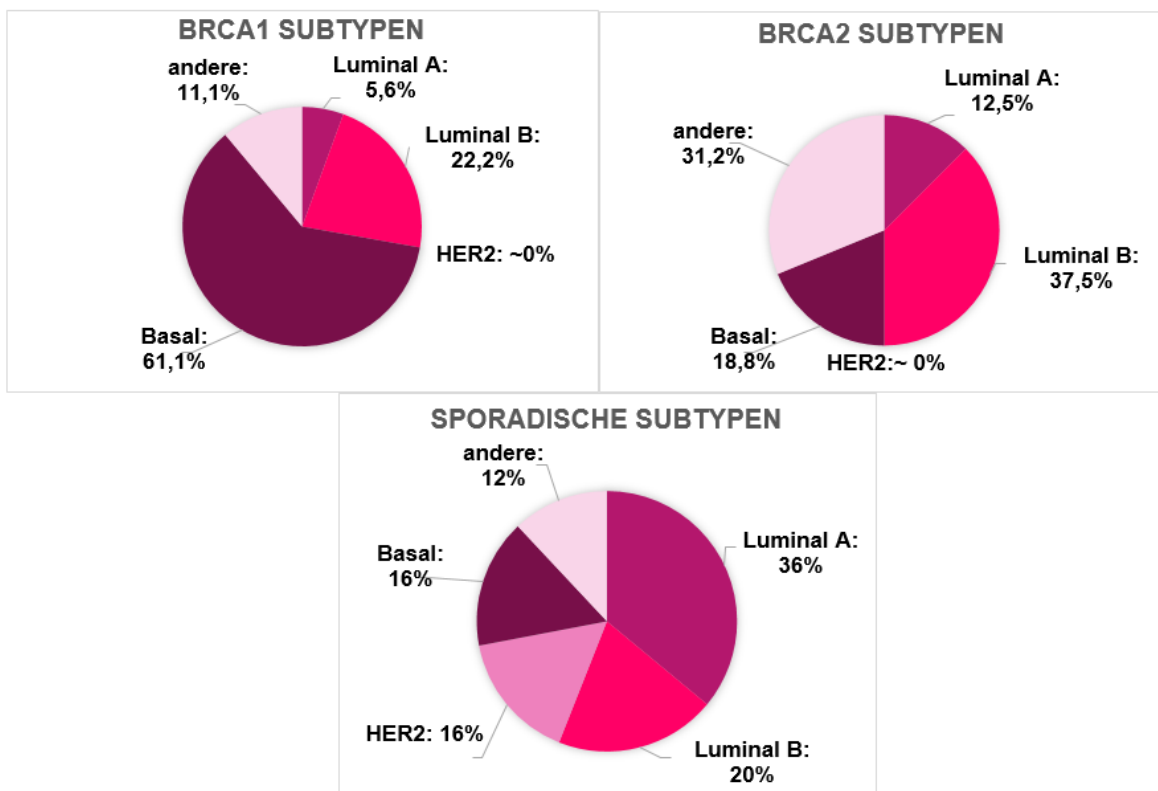


Abbildung 6 Durchschnittliche Aufteilung molekularer Subtypen bei BRCA1/2 Mutationen und sporadischen Mammakarzinomen [36].

### 1.5.5 TP53, PTEN, STK11, CDH1

**TP53** (17p13.1) ist ein Tumorsuppressorgen [23],[25]. TP53 Mutationen sind selten, eine mögliche Mutation sollte jedoch in Betracht gezogen werden, wenn gehäuft Mammakarzinome und andere Karzinome in einer Familie auftreten und die Testung auf Mutationen in BRCA1/2 negativ war. [21],[28]. Das Lebenszeitrisiko für ein Karzinom beträgt für Frauen 93% und für Männer 68% [21]. Brustkrebs ist bei weiblichen TP53 Mutationsträgerinnen die häufigste Karzinomform [25]. Frauen mit einer Mutation entwickeln bis zum 50. Lebensjahr zu etwa 50% ein Mammakarzinom. Die Prävalenz von TP53 Mutationen bei Frauen mit einem Mammakarzinom beträgt jedoch weniger als 1% [14]. Die Vererbung erfolgt autosomal dominant und typisch ist, dass Karzinome oft multipel und bereits im Kindesalter auftreten [27],[28].

**PTEN** ist ein Tumorsuppressorgen auf dem Chromosom 10 (10q23.3) [14],[21],[25]. Ein Mammakarzinom entwickelt sich zu 25-50% [27]. Ebenso treten gehäuft multiple Hamartome, Schilddrüsenkarzinome, Nierenkarzinome, Kolonkarzinome, Polypen und Karzinome des GIT, Ovarialzysten und Endometriumkarzinome auf [14],[21],[25],[27],[28].

**STK11** befindet sich auf dem Chromosom 19 (19q13.3) und ist ebenfalls ein Tumorsuppressorgen [14],[25]. Mutationen treten als eine autosomal dominante Keimbahnmutation im Serin/Threonin Kinase Tumorsuppressorgen auf [21],[27],[28]. Das durchschnittliche Erkrankungsalter für Mammakarzinome beträgt 39 Jahre (14). Das Brustkrebsrisiko mit 60 Jahren beträgt etwa 50% [28]. Häufig treten Polypen, mukokutane Läsionen, GIT-, Kolon-, Zervix-, Ovarial-, Pankreas- und Lungenkarzinome auf [14],[21],[23],[25],[27],[28].

**CDH1** befindet sich auf Chromosom 16 und agiert auch als Tumorsuppressorgen. Es codiert für das Glykoprotein E-Cadherin. Eine verminderte E-Cadherin Funktion konnte mit einer höheren Metastasierungsrate assoziiert werden, weil der Funktionsverlust des Adhäsionsmoleküls zur erhöhten zellulären Bewegung führt und so Karzinomzellen einfacher die Basalmembran durchqueren können [23]. Das Mammakarzinomrisiko beträgt ungefähr 39-52%, wobei gehäuft lobuläre Karzinome auftreten [21],[27],[28].

Tabelle 4 zeigt eine Übersicht der hochpenetranten Gene und dem damit verbundenen Mammakarzinomrisiko.

*Tabelle 4 Übersicht der hochpenetranten Mammakarzinomgene [21],[25],[28],[45].*

Gen	Syndrom	Vererbung	Inzidenz	Brustkrebs Risiko	Ovarialkarzinom Risiko
<b>BRCA1/2</b>	HBOC	AD	1:400-800	43-85%	erhöht
<b>TP53</b>	Li Fraumeni	AD	1:20.000	56-90%	nicht erhöht
<b>PTEN</b>	Cowden	AD	1:200.000	25-50%	nicht erhöht
<b>STK11</b>	Peutz-Jeghers	AD	1:50.000-200.000	32-54%	für nicht-epitheliale OK erhöht
<b>CDH11</b>	familiäres Magenkarzinom	AD	1-3% aller Magenkarzinome	60%	nicht erhöht

## 1.6 Mutationen mit moderater/niedriger Penetranz

Da es keine standardisierten Richtlinien für das weitere Prozedere für TrägerInnen von Genmutationen von moderater/niedriger Penetranz gibt, muss je nach persönlicher bzw. familiärer Krankengeschichte immer individuell entschieden werden, welche Vorsorgeempfehlungen sinnvoll erscheinen [28].

**ATM** (Ataxia-Telangiectasia Mutated Gen) liegt am langen Arm des X Chromosoms (Xq22-Xq23) und scheint auch im Nerven- und Immunsystem eine Funktion zu haben. Das Protein spielt eine wichtige Rolle bei der Zellteilung und dem Zellwachstum und es hilft Zellen DNA Schäden zu erkennen [23]. Heterozygote ATM MutationsträgerInnen scheinen ein 2-fach erhöhtes Mammakarzinomrisiko aufzuweisen [25]. Ebenso treten gehäuft Ovarial-, Pankreas- und Lungenkarzinome auf [28].

**CHEK2** codiert für die Checkpoint Kinase 2 und ist ein Tumorsuppressorgen am langen Arm des Chromosoms 22 (22q12.1) [19],[23]. CHEK2 phosphoryliert BRCA1 bei DNA Schäden und scheint vor allem das Mammakarzinomrisiko bei Männern um das 10-fache und bei Frauen um das 2-fache zu erhöhen [28]. Ebenso ist das Risiko für Prostata-, Magen-, Nieren-, Schilddrüsen- und Kolonkarzinome erhöht [25],[27].

**BRIP1** (BRCA interacting helicase 1) befindet sich am langen Arm des Chromosoms 17 (17q22.2) und ist ein Tumorsuppressorgen. BRIP1 interagiert mit BRCA1 und hilft DNA Schäden zu reparieren [23]. PatientInnen mit homozygoter Mutation zeigen den typischen Fanconi Anämie Phenotyp [28].

**PALB2** (Partner and localizer of BRCA2) liegt am kurzen Arm des Chromosoms 16 (16p12.2) und Mutationen führen zu einem 2-fach erhöhten Mammakarzinomrisiko [23]. PALB2 ist ein Tumorsuppressorgen und interagiert mit BRCA2 bei der Korrektur von DNA Brüchen [28].

**RAD50** liegt am langen Arm des Chromosoms 5 (5q31) und **RAD51** am langen Arm des Chromosoms 15 (15q15.1). RAD51 interagiert mit vielen anderen Proteinen wie BRCA1/2 und PALB2. Eine Vielzahl von Mutationen in RAD werden mit einem erhöhten Mammakarzinomrisiko assoziiert [23]. Mammakarzinome, die mit RAD51C in Verbindung gebracht werden, zeigen am ehesten den Luminal A Subtyp [19].

**BARD1** (BRCA1 associated ring domain 1) befindet sich am langen Arm des Chromosoms 2 (2q34-35). BARD1 stabilisiert BRCA1, präsentiert dem BRCA1 Protein mögliche DNA Strangbrüche und interagiert auch mit dem TP53 Protein [23]. Bisher konnten vier verschiedene Keimbahnmutationen nachgewiesen werden [25].

**NBN** (Nibrin Gen) liegt am langen Arm des Chromosoms 8 (8q21) und codiert für das Protein Nibrin [23]. Besonders die slavische Foundermutation c.657del5 scheint mit einem moderaten Mammakarzinomrisiko assoziiert zu sein [46].

### **1.6.1 Single Nucleotide Variants/Polymorphism (SNP)**

Polymorphismen sind Varianten, die bei mehr als 1% der Normalbevölkerung vorkommen. Als Single Nucleotide Polymorphism (SNP) bezeichnet man Varianten, bei denen nur eine Base verändert ist und die relativ häufig bei bestimmten Populationen auftreten [47]. Bisher wurden 45 SNP, die mit einem erhöhten Mammakarzinomrisiko assoziiert sind, gefunden [67]. In „Genome-wide Association Studies“ (GWAS) konnte gezeigt werden, dass SNP das Mammakarzinomrisiko für BRCA1/2 MutationsträgerInnen zusätzlich signifikant erhöhen [48],[49].

## 1.7 Genvarianten mit unspezifischer Signifikanz

Varianten mit unspezifischer Signifikanz (VUS) sind Veränderungen einer Gensequenz, deren Konsequenz des daraus entstehenden Genprodukts und das Karzinomrisiko nicht eindeutig bekannt sind. Etwa 10-20% aller gefundenen Mutationen sind VUS [33]. 2-5% der auf BRCA1/2 getesteten Personen weisen Mutationen von unbestimmter pathogener Signifikanz auf [28]. Vom Breast Cancer Information Core (BCIC) werden sogar ein Drittel der gefundenen Varianten von BRCA1 und 50% der Varianten von BRCA2 als VUS eingestuft [50]. VUS stellen bezüglich der Interpretation und des Managements eine große Herausforderung im klinischen Alltag dar [47].

The American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) empfiehlt den Gebrauch der neuen standardisierten Terminologie zur Klassifikation genetischer Varianten [51]. (Abbildung 7) Anstatt des Terminus Mutation und Polymorphismus sollte nur mehr der Terminus „Variant“ benutzt werden. Ebenso wird empfohlen, sich bei der Befunderstellung an die Nomenklatur der Human Genome Variation Society (HGVS) zu halten. Dabei steht (c) für die DNA Sequenz und (p) für das Protein [51].

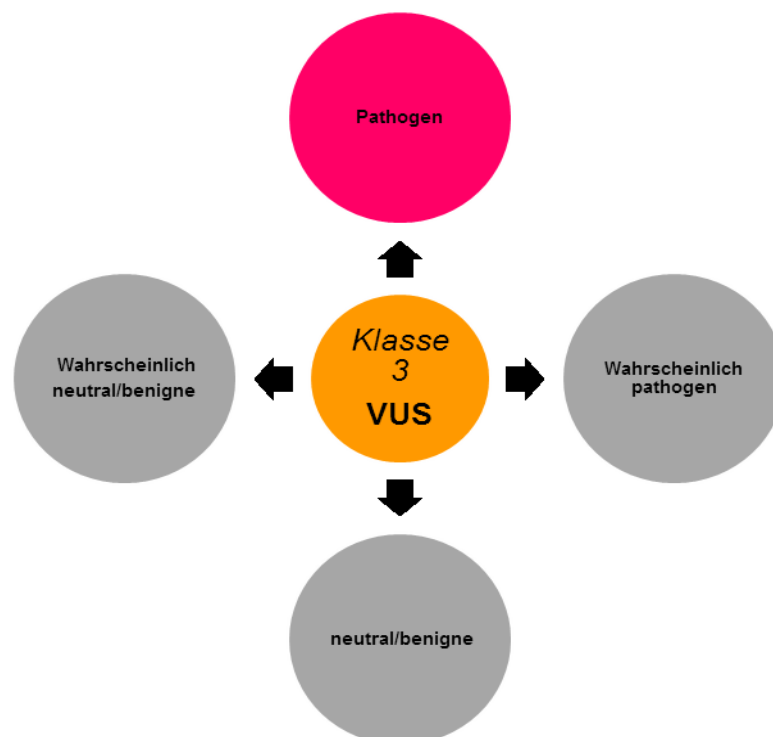


Abbildung 7 Klassifikation genetischer Varianten unbestimmter Signifikanz [47].

### 1.7.1 Datenbanken und Arbeitsgruppen

Verschiedene Datenbanken wurden entwickelt, um das Wissen über brustkrebspezifische Mutationen zu bündeln [28].

Die Breast Cancer Information Core Database (**BIC**) ist eine frei zugängliche Datenbank, die 1995 entwickelt wurde. Sie enthält zusätzlich zu Mutationsbeschreibungen auch Informationen über Mutationsdetektionsmethoden und genspezifische Primer [52].

2014 wurde vom Evidence-based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles (**ENIGMA**) die Clinvar Datenbank erstellt, mit der nun viele VUS als pathogen oder neutral klassifiziert werden können [28].

Das Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2 (**CIMBA**) ist eine Arbeitsgemeinschaft aus mehr als 37 Gruppen [42]. CIMBA analysiert sogenannte risk-modifiers bzw. Gen Loci, die das Mammakarzinomrisiko für BRCA1 und BRCA2 MutationsträgerInnen zusätzlich beeinflussen [41],[53]. Außerdem werden klinische Daten, Risikofaktoren und genetische Daten von BRCA TrägerInnen gesammelt und ausgewertet [34].

Die Human Gene Mutation Database (**HGMD**) wurde 1996 gegründet und enthält eine Vielzahl von krankheitsassoziierten Keimbahnmutationen. Mit über 200.000 Genmutationen aus über 2600 Journals ist sie ein wichtiges Instrument für die Datensammlung von Next Generation Sequencing Daten [54].

Referenzsequenzen bzw. Referenztranskripte sollten entweder der RefSeq Database, Locus Reference Genomic Database, der HGMD oder der ClinVar Datenbank entnommen werden [51].

## 1.8 Genetische Beratung und Testung und bei BRCA1/2

### Mutationen

Die genetische Beratung und Testung spielt eine wichtige Rolle in der Prävention, der Diagnose und der Handhabung von hereditärem Brustkrebs. Die Aufgaben einer genetischen Beratung beinhalten: Erfragen der Familienanamnese und Erstellung eines Stammbaumes, Kalkulation des Mutationsrisikos anhand der Selektionskriterien, die Auswahl des geeigneten genetischen Tests, Einholen der Einverständniserklärung und schließlich die Besprechung der möglichen Ergebnisse nach einer Testung sowie die neuerliche Beratung und Aufklärung über weiterführende Maßnahmen [55].

### Beratung

Der Familienstammbaum sollte zumindest drei Generationen beinhalten, den Karzinomtyp aller erkrankten Personen in der Familie, das aktuelle Alter der betreffenden Person, das Alter der erkrankten Person bei Diagnosestellung und das Jahr des Todes der Verwandten soweit anamnestisch bekannt. [55]. Das HBOC Syndrom ist eine komplexe genetische Erkrankung, die eine entsprechende multidisziplinäre Zusammenarbeit zwischen Spezialisten aus den verschiedensten Fachrichtungen (Gynäkologie, Chirurgie, Genetik, Radiologie, Psychologie) verlangt und deren Aufgabe darin besteht, Personen über präventive Maßnahmen (medikamentös, chirurgisch) und Screeningmethoden sowie deren Vorteile und Risiken zu beraten [44].

Faktoren, die auf eine BRCA Mutation bzw. ein HBOC Syndrom hinweisen können sind in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5 Selektionskriterien zur molekulargenetischen Testung von BRCA1/2 [18],[20],[22],[35],[56].

1 Fall eines Mammakarzinoms vor dem 35. Lebensjahr
2 Fälle eines Mammakarzinoms, einer vor dem 50. Lebensjahr
3 Fälle eines Mammakarzinoms vor dem 60. Lebensjahr
Triple negatives Mammakarzinom vor dem 60. Lebensjahr
1 Fall eines Mamma- und Ovarialkarzinoms jeglichen Alters
2 Fälle eines Ovarialkarzinoms jeglichen Alters
1 Fall eines epithelialen Ovarialkarzinoms, Tuben- oder primären Peritonealkarzinoms
1 Fall eines männlichen Mammakarzinoms
Nachweis einer BRCA1/2 Mutation in der Familie

### Genetische Testung und mögliche Testergebnisse

Bei bereits bekannter BRCA1/2 Mutation wird empfohlen beide Elternteile zu testen, um die Keimbahnmutation einer familiären Seite zuordnen zu können. Ist in einer Familie bereits eine Keimbahnmutation bekannt, wird zuerst speziell auf diese pathogene Variante getestet [27].

Next Generation Sequencing (NGS) macht es möglich BRCA und andere mit der homologen Rekombination assoziierte Genmutationen effizient und kostengünstig zu erfassen [32],[46],[55].

Für Nachkommen beträgt das Risiko einer Mutation 50%, für Geschwister ebenfalls 50%, wenn ein Elternteil Mutationsträger/in ist. Genetische Testungen werden nicht vor dem 18. Lebensjahr durchgeführt [27].

### A- Negatives Ergebnis

Wenn das Ergebnis der Testung negativ für BRCA1/2 ist sollte aufgeklärt werden, dass es möglicherweise andere Mutationen gibt, die noch gar nicht identifiziert wurden. Oftmals ist die Signifikanz einer gefundenen Mutation unklar (VUS) [57]. Zeigt sich in der genetischen Testung keine BRCA1/2 Mutation wird der ratsuchenden Person die Teilnahme am Österreichischen Mammakarzinom-Früherkennungsprogramm empfohlen [20].

### B- Positives Ergebnis

Wird bei der Testung eine BRCA1/2 Mutation und/oder eine VUS gefunden soll die Person über das Hochrisiko-Früherkennungsprogramm aufgeklärt werden und bei einer gesicherten BRCA1/2 Mutation über die prophylaktische bilaterale Mastektomie bzw. die prophylaktische bilaterale Salpingoovarektomie (RRSO) zur Senkung des Ovarial- und Mammakarzinomrisikos. Personen, die bereits unilateral an einem Mammakarzinom erkrankt sind sollten über die kontralaterale Mastektomie als Behandlungsoption aufgeklärt werden [18],[20],[27].

Die RRSO gilt als Standard das Ovarialkarzinomrisiko bei BRCA1/2 Trägerinnen zu senken [23],[65]. Zusätzlich wird auch das Mammakarzinomrisiko um ca. 50%, in erster Linie durch das Einsetzen einer früheren Menopause gesenkt [28],[40]. Unerwünschte Begleiterscheinungen sind Hitzewallungen, nächtliches Schwitzen, Dyspareunie und Libidosenkung [44].

Die Handhabung und die Früherkennungsmaßnahmen von HBOC assoziierten Karzinomen sollten immer individuell erfolgen, wobei das früheste Erkrankungsalter in der Familie als Richtwert dient [21],[27]. Das weitere Prozedere richtet sich natürlich danach, ob eine Person erkrankt oder asymptomatische/r Mutationsträger/in ist [35].

Genauere Richtlinien für klinische Empfehlungen bei bekanntem HBOC Syndroms wurden vom National Comprehensive Cancer Network (NCCN) beschrieben [21].

(Tabelle 6)

Tabelle 6 Screening Empfehlungen bei bekanntem HBOC Syndrom [18],[20],[21],[27],[37],[40],[58],[68].

Mammakarzinom	Alter	Ovariakarzinom	Alter
monatliche Selbstuntersuchung	ab 18. LJ.	transvaginaler Ultraschall alle 6 Monate	ab 30. LJ.
halb-/jährliche klinische Brustuntersuchung	ab 25. LJ.*	CA-125 Tumormarker	ab 35. LJ.*
Brustsonographie	ab 25. LJ.*		
jährliche MR Mammographie	ab 25. LJ.*		
jährliche Mammographie	ab 30.LJ.		
* bzw. 5 Jahre vor dem Alter des jüngsten betroffenen Familienmitglieds			
<b>Männer:</b> Anleitung zur Brustselbstuntersuchung ab dem 35. LJ.: Klinische Kontrollen ab dem 40.LJ.: jährliche Prostatauntersuchungen			

### 1.8.1 Prognose und Langzeitüberleben

Tumorgröße, Nodalstatus und Grading sind immer noch die wichtigsten prognostischen Faktoren für das Langzeitüberleben nach einem Mammakarzinom. Aber auch der Mitotische Index, die Lymphknotenengefäßinvasion, der HER2 Status und der Genstatus scheinen ebenfalls prognostische Aussagekraft zu haben. Allgemein liegt in den westlichen Ländern die 5JÜR bei 88% und die 10JÜR bei 70% [59].

Eine Metaanalyse zeigte, dass bei Ovarialkarzinomen im Gegensatz zu Mammakarzinomen der BRCA1/2 Status mit einem besseren Gesamtüberleben (OS=Overall survival) (HR:BRCA1= 0,76; HR:BRCA2= 0,58) assoziiert ist. Unter den BrustkrebspatientInnen zeigten BRCA1 MutationsträgerInnen ein schlechteres Gesamtüberleben (HR:BRCA1= 1,5) als Nicht-MutationsträgerInnen [60]. BRCA1 MutationsträgerInnen zeigen häufiger Triple negative Mammakarzinome, welche allgemein mit einer schlechteren Prognose verbunden sind [60].

Ein anderer Vergleich von 16 Studien zeigte auf, dass BRCA Mutationen nicht mit einem schlechteren Gesamtüberleben (HR:BRCA1/2=1,06) assoziiert sind. Eine Östrogenrezeptorexpression scheint das Gesamtüberleben im Gegensatz zum Erkrankungsalter oder dem Progesteronrezeptorstatus für BRCA1 MutationsträgerInnen negativ zu beeinflussen [61].

Andere Studien zeigten, dass der BRCA Status nicht mit dem klinischen Verlauf der Erkrankung oder der Prognose assoziiert ist [62].

## 1.9 Therapiekonzepte bei BRCA assoziiertem Mammakarzinom

Die genetische Beratung und Testung, die kurz nach Diagnosestellung eines Mammakarzinoms erfolgt, wird als „Treatment focused genetic testing“ (TFGT) bezeichnet [63]. Danach können individuelle Therapieentscheidungen getroffen werden:

### Systemische Therapie

Zielgerichtete Therapien sind bereits Standard in der Therapie des Mammakarzinoms. Beispielweise sind bei ER-positiven Tumoren die Hormontherapien mit Antiöstrogenen, Aromatasehemmer und Gonadotropin-Releasing Hormon- Analoga zu erwähnen, bei HER2-positiven Tumoren die monoklonalen Antikörper (zBsp. Trastuzumab, Pertuzumab) und das Antikörper/Zytostatikum Konjugat (Trastuzumab-Emtansin). Ein großes Problem stellen jedoch immer noch die Triple-negativen Tumore dar [64].

Es konnte eine erhöhte Platinsensitivität, also ein erhöhtes Ansprechen auf platinhaltige Therapieschemata, bei BRCA Tumoren gezeigt werden [27],[40],[43],[62]. Klinische Studien zeigten besonders, dass platinhaltige Chemotherapieschemata und die Poly-ADP Ribose Polymerase-Hemmer (PARP-Inhibitoren) bei BRCA Tumoren gut wirksam sind. Beide Substanzen führen zur Apoptose von Zellen, in denen BRCA vermindert ist [65]. Es zeigte sich sowohl eine hohe Ansprechrate unter Cisplatin basierten Chemotherapieschemata als auch eine verbesserte komplette Remissionsrate unter neoadjuvanter Carboplatin-gabe bei TNBC Tumoren [43],[65].

Einige Studien zeigten Resistenzen von BRCA Tumoren gegenüber Zytostatika wie Taxanen oder Vinca-Alkaloiden [40].

### Der PARP-Inhibitor

Olaparib(PARP-I) wurde im Dezember 2014 für die Therapie eines high-grade serösen Ovarialkarzinom, Tubenkarzinom oder Peritonealkarzinom bei BRCA1/2 Mutation und nach platinhaltiger Chemotherapie zugelassen. Nebenwirkungen sind: Nausea, Fatigue, Anämie, Diarrhoe und Thrombozytopenie [65].

### Operative Therapie

Die bilaterale prophylaktische Mastektomie reduziert das Brustkrebsrisiko um 90-95% [63],[66]. Entscheidungskriterien für die meisten Frauen sind:

Junges Alter, starke familiäre Belastung oder die eigene Brustkrebserkrankung. Die bilaterale/kontralaterale prophylaktische Mastektomie sollte speziell mit jüngeren Patientinnen bereits zum Diagnosezeitpunkt als Option, aufgrund des hohen Risikos eines kontralateralen Tumors, in Betracht gezogen werden [66].

### Rekonstruktion

Die Mammarekonstruktion mit Implantaten wird von der Mehrheit der Patientinnen gewählt. Durch eine Vielzahl von neuen Techniken (ADM- unterstützte Brustrekonstruktion) werden dabei langanhaltende kosmetisch-ansprechende Resultate erzielt insbesondere wenn zusätzlich zum Implantat eine azelluläre dermale Matrix (ADM) verwendet wird. Dabei handelt es sich um ein steriles Gewebegerüst aus natürlichen Materialien, wie zum Beispiel Schweine oder Rinderhaut oder Netze aus Kunststoff (zBsp. TIGR® Mesh) [66].

Einige Studien zeigten, dass das Risiko eines ipsilateralen Rezidivs für BRCA MutationsträgerInnen nach brusterhaltender Operation und Strahlentherapie nicht höher ist als bei sporadischen Karzinomen. Andere Studien mit einer längeren Nachbeobachtungszeit von 10-15 Jahren zeigten jedoch ein höheres ipsilaterales Rezidivrisiko für BRCA MutationsträgerInnen, wobei Karzinome oftmals in anderen Quadranten und mit anderen histologischen Eigenschaften auftreten, also eher als neue Malignome zu werten sind [62].

Auch das frühere Erkrankungsalter scheint das Risiko für ipsilaterale und kontralaterale Tumore besonders für BRCA1 MutationsträgerInnen zu erhöhen [62].

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Studienaufbau und Kernfragen**

In dieser Diplomarbeit wurde eine retrospektive Datenanalyse von PatientInnen und deren Angehörigen durchgeführt, welche im Brustgesundheitszentrum an der Geburtshilflich-Gynäkologischen Abteilung des LKH Hochsteiermark Standort Leoben, beraten und auf eine mögliche Genmutation getestet wurden. Zielsetzung dieser Arbeit war, die Häufigkeiten von BRCA1 und BRCA2 Mutationen in der Hochsteiermark, sowie die Häufigkeit einer Mutation unbestimmter Signifikanz (VUS) zu ermitteln. Ebenso wurden die vorhandenen humangenetischen Befunde und die darin vorkommenden BRCA Mutationen tabellarisch dargestellt. Verschiedene Parameter wie Erkrankungsstatus, Erkrankungsalter und histopathologische Eigenschaften (Rezeptorstatus, Differenzierungsgrad, Ki67-Index) und mögliche Zusammenhänge mit einer BRCA Mutation wurden untersucht.

### **2.2 Datenaufbau**

Im Brustgesundheitszentrum des LKH Leoben erfolgte im Zeitraum März-Juni 2017 die Durchsicht von genetischen Befunden, Stammbaumanalysen und Ergebnisse der Testungen von 180 Ratsuchenden/Patienten. Diese wurden im Zeitraum von Jänner 2010- April 2017 genetisch beraten und es wurden jeweils 8ml Vollblut inklusive Einverständniserklärung für die genetische Untersuchung/molekulargenetische Analyse versendet.

Die genetischen Testungen wurden am Institut für Humangenetik der Medizinischen Universität Graz und im Zentrum für Familiären Brust- und Eierstockkrebs des AKH Wien durchgeführt. Bei einem positiven Testergebnis erfolgte eine zweite Testung mittels unabhängiger Blutprobe.

Dabei wurde entweder eine sogenannte Einzelgen-Diagnostik, um auf eine bekannte familiäre Mutation zu testen bzw. bestimmte Gene zu sequenzieren oder eine Next Generation Sequencing (NGS) Tumorpanel Testung durchgeführt. Mit dieser Analysemethode können mehrere indikationsspezifische Gene gleichzeitig analysiert werden, da eine parallele Sequenzierung einer großen Anzahl von DNA Molekülen in einem einzigen Durchlauf möglich ist. (zum Beispiel ein Genpanel hochrelevanter Gene: BRCA1/2, CHEK2, PTEN, STK11, TP53) vor allem wenn sich in einer Familie noch zusätzlich andere Tumorerkrankungen häufen.

Das Verfahren eignet sich besonders für genetisch heterogene Erkrankungen, wie dem hereditären Mammakarzinom, bei denen Mutationen in verschiedenen Genen ursächlich sein können.

Das Testergebnis enthält den Gennamen, den Namen der Variante laut HGVS Nomenklatur, Allel Frequenz, Erbgang (heterozygot/homozygot), und die Klassifikation laut ACMG Standards (**Richards S. et al. Genet. Med. 2015**).

Am Institut für Humangenetik Graz erfolgt die Einzelgendiagnostik für BRCA1/2 laut Beschreibung der Befunde von 2017 mittels DNA Isolierung aus Vollblut, PCR Amplifikation und direkte Sequenzierung des speziellen Bereichs des BRCA Gens. Danach erfolgt eine computerunterstützte Auswertung zur Identifikation von Sequenzvarianten bzw. ein Vergleich der Resultate mit Sequenzdatenbanken. Für Punktmutationen besteht eine Sensitivität von 97%. Sind zusätzliche Untersuchungen größerer Deletionen oder Duplikationen nötig, erfolgt eine ergänzende MLPA Analyse, da diese durch die neue NGS Methode nicht erfasst werden.

Die Analyse am AKH Wien erfolgt ebenso aus Vollblut und bei der Beschreibung der Ergebnisse wird die Internationale Nomenklatur der Human Genome Variation Society (HGVS) angewandt. Die Sensitivität wird mit 100% und die Spezifität mit 99,9% angegeben. Durchgeführt wird die Analyse mittels Applied Biosystem 3730 DNA Analyser. Die Befunde enthalten die genaue Auflistung der Nukleotid/Aminosäure Veränderung in Tabellenform und die pathogene Klassifikation. Mittels MLPA kann die Duplikation bzw. Deletion eines Exons in BRCA1/2 nachgewiesen werden.

Danach erfolgte die Durchsicht der elektronischen Krankenakten von den an einem Mammakarzinom erkrankten PatientInnen.

## 2.3 Erhobene Daten

Folgende Parameter wurden aus den genetischen Befunden der PatientInnenakten im Brustgesundheitszentrum Leoben entnommen:

- Geschlecht
- Geburtsdatum, Alter
- Alter bei Ersttestung
- Jahr der ersten genetischen Beratung/Testung
- BRCA1 Status
- BRCA2 Status
- VUS
- Nukleotid/Aminosäureveränderungen
- Zusätzliche genetische Veränderungen

### *Stammbaumanalyse*

- Karzinomart
- Erkrankungsalter
- Mammakarzinome/Ovarialkarzinome in der Familie
- Andere Karzinomarten in der Familie
- Männliche Mammakarzinome

*Aus den elektronischen Krankenakten wurden folgende Daten von den erkrankten Patienten übernommen:*

- TNM Stadien bei Diagnosestellung
- Differenzierungsgrad
- ER und PR Status
- HER2 Status
- Ki67 Index

## **2.4 Ein- und Ausschlusskriterien**

Von den 180 Datensätzen wurden 135 Datensätze von Ratsuchenden/PatientInnen zur weiteren retrospektiven Auswertung herangezogen, welche im Zeitraum von 01.01.2010-21.04.2017 im Brustgesundheitszentrum des LKH Hochsteiermark Standort Leoben genetisch beraten wurden. Diese wurden entweder im Institut für Humangenetik der Med. Universität Graz oder an der Abteilung für spezielle Gynäkologie im AKH Wien auf eine mögliche Genmutation, entsprechend der Selektionskriterien getestet.

Ergebnisse von Testungen welche nach dem 21.04.2017 eingelangt sind, sowie vor dem 01.01.2010 datiert waren, wurden nicht für die weiteren Auswertungen verwendet.

Sowohl Frauen als auch Männer, deren Ergebnis im oben genannten Zeitraum vorlag, wurden bei der Auswertung eingeschlossen.

## **2.5 Statistische Auswertungen**

Die Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mittels der Statistik- und Analysesoftware SPSS Version 23 (IBM). Dafür wurden die vorhandenen Excel-Daten, welche für die folgenden Auswertungen erforderlich waren, in den SPSS Dateneditor übertragen. Einige Tabellen und Graphiken wurden mit dem Programm Microsoft Office Excel 2013 erstellt.

Die in den genetischen Befunden vorkommenden Genmutationen und daraus resultierenden molekularen Konsequenzen wurden mit den Daten aus der frei zugänglichen ClinVar Datenbank verglichen. Damit konnte die Entwicklung der klinischen Signifikanz der gefundenen Mutationen recherchiert werden.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Allgemeine Analyse des PatientInnenkollektivs

##### Geschlechts- und Altersverteilung bei Ersttestung

Die Aufteilung der Stichprobe nach dem Geschlecht ergab, dass von den 135 Ratsuchenden/PatientInnen 97,8% (N=132) weiblich und 2,2% (N=3) männlich waren. (Tabelle 7)

*Tabelle 7 Geschlechterspezifische Aufteilung der Testpersonen.*

	Häufigkeit	Prozent
<b>Männer</b>	3	2,22
<b>Frauen</b>	132	97,78
<b>Gesamtkollektiv</b>	135	100

Die deskriptive Datenanalyse des Alters bei Ersttestung in Abhängigkeit vom Geschlecht ergab folgende Werte:

Zum Zeitpunkt der genetischen Testung lag das durchschnittliche Alter des gesamten PatientInnenkollektivs bei 49,33 Jahren (M=49,33; SD=13,47). Die jüngste weibliche Testperson war zum Testzeitpunkt 21 Jahre, die älteste 83 Jahre alt. (Min=21; Max=83). (Abbildung 8). Bei Frauen liegt der Median bei 50 Jahren (M=49,15; SD=13,56), bei Männern bei 56 Jahren (M=57; SD=3,61).

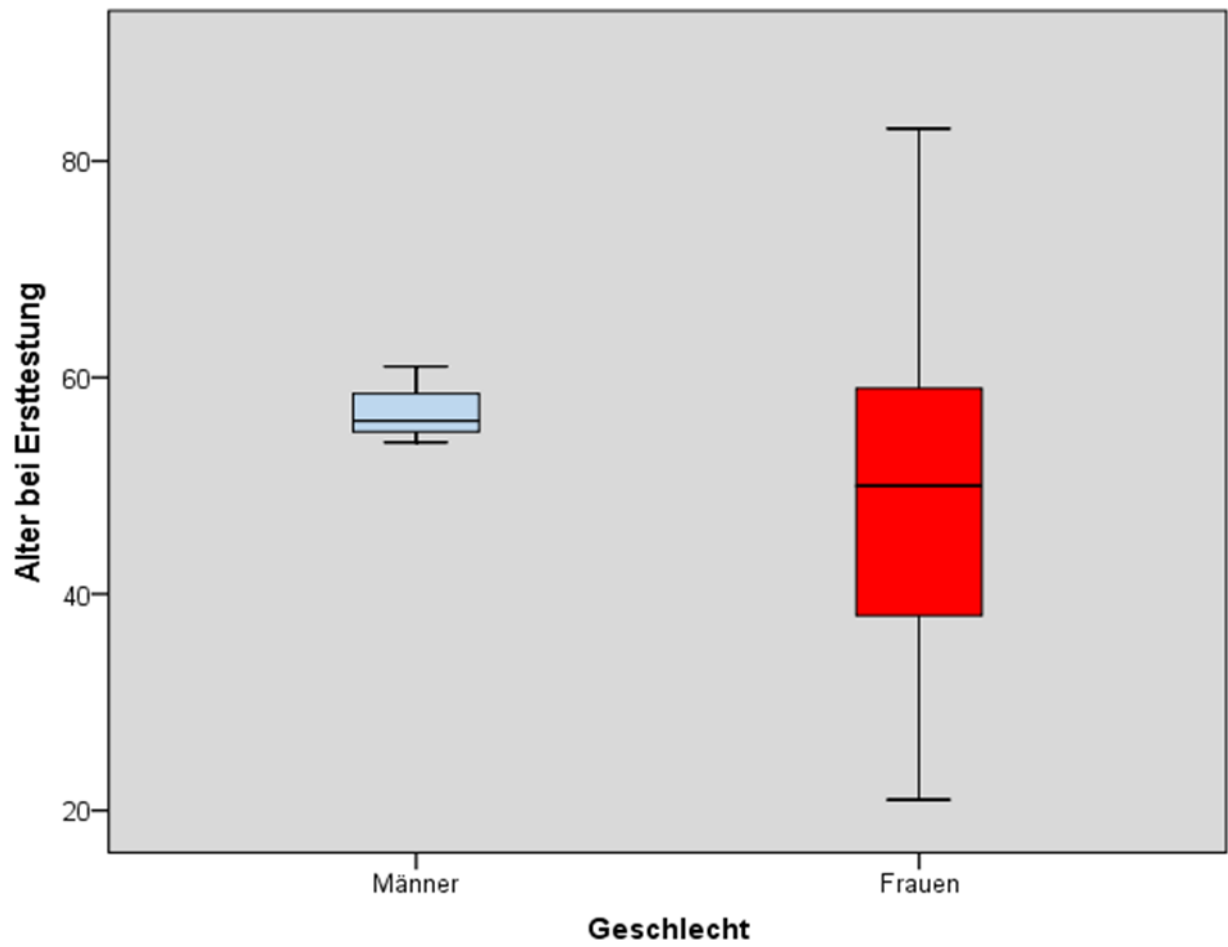


Abbildung 8 Altersverteilung der Testpersonen.

Von den 135 genetischen Befunden wurden 57,8% (N=78) in Wien und 42,2% (N=57) im Institut für Humangenetik Graz erstellt (Abbildung 9).

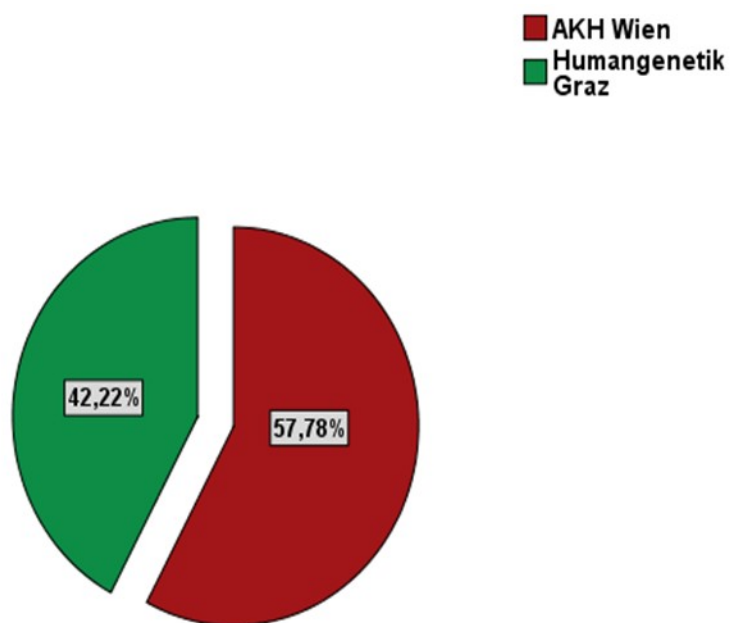


Abbildung 9 Prozentuelle Aufteilung der genetischen Befunde.

### Anzahl durchgeführter Testungen pro Jahr

Zum Zeitpunkt der Daten/Befunddurchsicht (Mai-Juni 2017) waren folgende Befunde von Ratsuchenden/PatientInnen, welche im Zeitraum 01.01.2010-21.04.2017 im Brustgesundheitszentrum (BGZ) Leoben getestet wurden, mit abgeschlossener Auswertung und einem vorhandenem Testergebnis vorliegend. (Abbildung 10) 31 Befunde konnten für das Jahr 2015 und 37 Befunde für das Jahr 2016 herangezogen werden. Im Jahr 2017 waren zum Auswertungszeitpunkt bisher 11 Befunde vollständig abgeschlossen.

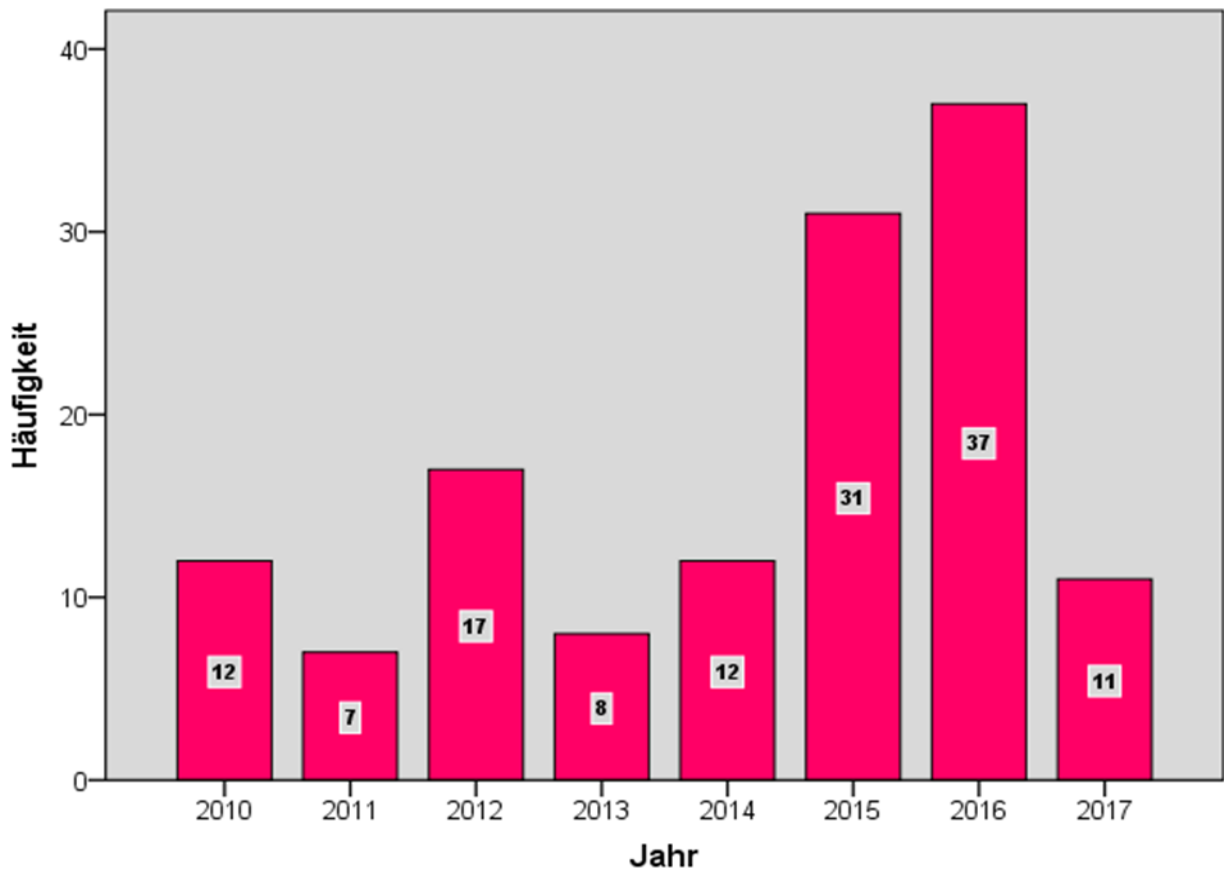


Abbildung 10 Ergebnisse genetischer Testungen im BGZ Leoben 2010-2017.

### 3.2 Erkrankungsstatus und Karzinomart

Von den 135 Testpersonen waren zum Testzeitpunkt 88 Personen (65,1%) an einem Mammakarzinom erkrankt.

67 Personen (49,6%) waren an einem unilateralen Mammakarzinom, 14 Personen (10,4%) an einem bilateralen Mammakarzinom, 6 Frauen (4,4%) an einem Mamma- und Ovarialkarzinom und eine Frau (0,7%) an einem bilateralen Mammakarzinom und einem Ovarialkarzinom erkrankt.

6 Frauen (4,4%) waren zum Testzeitpunkt ausschließlich an einem Ovarialkarzinom erkrankt. Bei einer Patientin stellte sich ein im 71. Lebensjahr entdeckter Brusttumor als Metastase ihres Ovarialkarzinoms heraus.

Eine Frau (0,7%) erkrankte im 50. Lebensjahr an einem fortgeschrittenen primären Tubenkarzinom.

Zum Testzeitpunkt wiesen 40 getestete Personen (29,6%) keine Erkrankung auf, waren also gesund (Abbildung 11).

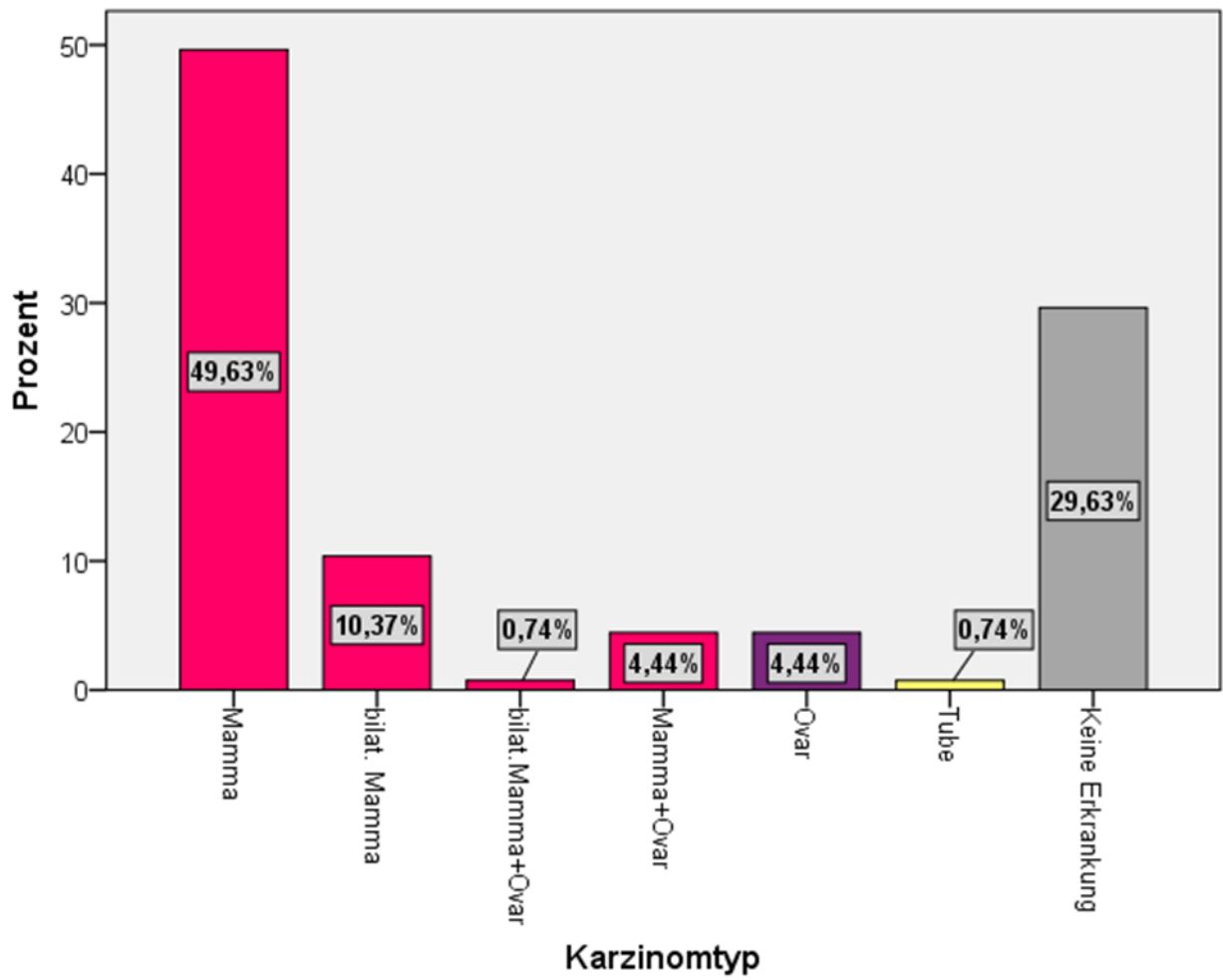


Abbildung 11 Erkrankungsstatus der Testpersonen zum Zeitpunkt der Testung.

### 3.3 Genetische Testungen

#### Mutationshäufigkeiten im PatientInnenkollektiv

Die Aufteilung der Häufigkeiten gefundener Mutationen im Gesamtkollektiv (N=135), zeigt bei 32 Testpersonen (23,7%) eine BRCA1 oder eine BRCA2 Mutation. 4 Testpersonen (3%) wurden positiv auf BRCA1 oder BRCA2 getestet und hatten zusätzlich noch mindestens eine Variante unbestimmter Signifikanz (VUS). Bei 18 Personen (13,3%) wurde ausschließlich mindestens eine VUS entdeckt. 81 Testpersonen (60%) hatten ein negatives genetisches Ergebnis. (Abbildung 12)

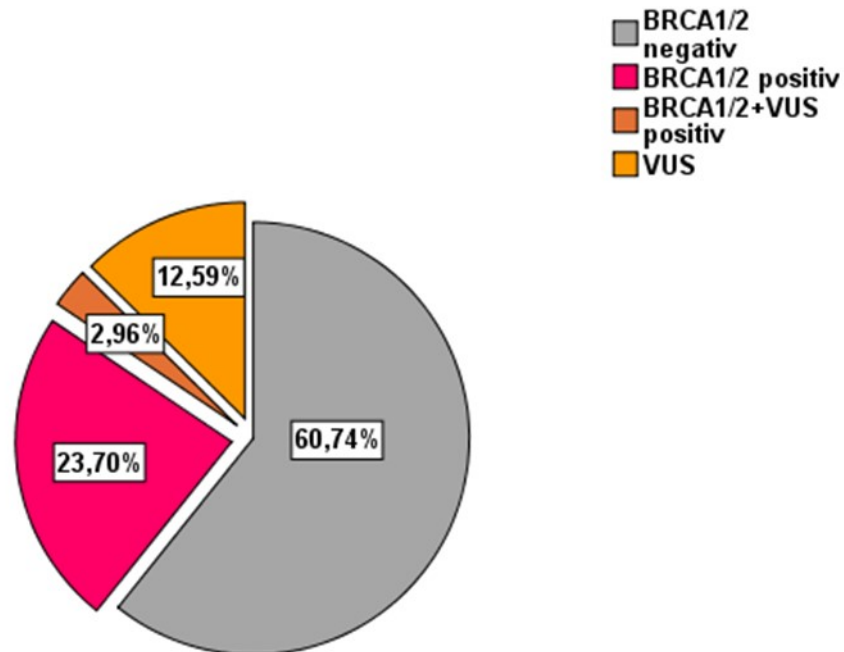


Abbildung 12 Testergebnisse im PatientInnenkollektiv.

### Häufigkeiten von BRCA1 und BRCA2 Mutationen

Von den 36 Testpersonen, welche einen positiven genetischen Befund aufwiesen, zeigte sich bei 22 eine BRCA1 Mutation. Das entspricht 16,3% aller getesteten Personen (N=135). Bei 14 Testpersonen (10,4%) konnte eine BRCA2 Mutation nachgewiesen werden. (Tabelle 8). Davon waren zwei BRCA1 Mutationsträger und eine Testperson mit einer Variante unbestimmter Signifikanz männlich.

*Tabelle 8 Häufigkeitsverteilung der BRCA1/2 Mutationen.*

	Häufigkeit	Prozent
<b>BRCA1</b>		
negativ	113	83,70%
positiv	22	16,30%
<b>BRCA2</b>		
negativ	121	89,60%
positiv	14	10,40%

### 3.3.1 BRCA1 Mutationen

Bei 22 Personen konnte eine krankheitsassoziierte BRCA1 Mutation in den humangenetischen Befunden evaluiert werden. Insgesamt wurden 8 verschiedene BRCA1 Mutationen diagnostiziert, wobei die c.5407-1G>A Mutation insgesamt fünfmal bzw. am häufigsten auftrat. Tabelle 9 zeigt die verschiedenen Nukleotid- und Aminosäureveränderungen, die Häufigkeit der gefundenen Mutationen, sowie den Variantentyp und die daraus resultierende molekulargenetische Konsequenz (vgl. Clinvar Datenbank). Von den 22 gefundenen BRCA1 Mutationen entsprechen 12 einem SNP und aus 10 resultiert ein Frameshift durch Deletion.

*Tabelle 9 BRCA1 Mutationen im PatientInnenkollektiv.*

Nukleotid	Anzahl	Aminosäure	Variante	Konsequenz
c.676delT	1	p.Cys226Valfs	Deletion	Frameshift
c.3481_3491delGAAGATACTAG	4	p.Glu1161Phefs	Deletion	Frameshift
c.329delA	3	p.Lys110Argfs	Deletion	Frameshift
c.5407-1G>A	5		Single Nukleotid	Splice Acceptor
c.1916T>A	3	p.Leu639Ter	Single Nukleotid	Nonsense/Stop
c.1687C>T	4	p.Gln563Ter	Single Nukleotid	Nonsense/Stop
c.1953_1956delGAAA	1	p.Lys653Serfs	Deletion	Frameshift
c.3901_3902delAG	1	p.Ser1301Terfs	Deletion	Frameshift
	<b>N=22</b>			

### 3.3.2 BRCA2 Mutationen

Insgesamt konnten 14 BRCA2 Mutationen ermittelt werden, wobei die c.3860delA Mutation am häufigsten, nämlich 3-mal vorkam. Es zeigte sich 8-mal eine Leserasterverschiebung (Frameshift) durch eine Deletion, sowie 5-mal durch Duplikation und ein SNP. (Tabelle 10).

Tabelle 10 BRCA2 Mutationen im PatientInnenkollektiv.

Nukleotid	Anzahl	Aminosäure	Variante	Konsequenz
c.1813dupA	1	p.Ile605Asnfs	Duplikation	Frameshift
c.6531dupT	1	p.His2178Serfs	Duplikation	Frameshift
c.6591_6592delTG	1	p.Glu2198Asnfs	Deletion	Frameshift
c.6275_6276delTT	1	p.Leu2092Profs	Deletion	Frameshift
c.2279dupT	2		Duplikation	3 Prime UTR Variant
c.3860delA	3	p.Asn1287Ilefs	Deletion	Frameshift
c.2251dupA	1	p.Thr751Asnfs	Duplikation	Nonsense
c.3218A>G	1	p.Gln1073Arg	Single Nukleotid	Missense
c.7042delA	1	p.Arg2272Glufs	Deletion	Frameshift
c.3545_3546delTT	2	p.Phe1182Terfs	Deletion	Frameshift
	<b>N=14</b>			

### 3.3.3 Varianten unbestimmter Signifikanz (VUS)

Bei 22 Personen konnte eine Variante unbestimmter Signifikanz gefunden werden. Davon hatten 18 PatientInnen eine VUS ohne zusätzliche positive BRCA Mutation und bei 4 Testpersonen trat eine VUS in Kombination mit einem positiven BRCA Status auf.

Im PatientInnenkollektiv wurden insgesamt 29 verschiedene VUS festgestellt. (Tabelle 11). Dabei waren 7 Mutationen VUS von BRCA1, 18 VUS von BRCA2, 3 VUS von PALB2 und eine von RAD50. 28 von den 29 VUS konnten als Single Nukleotid Polymorphismus eingestuft werden und eine VUS als Deletion. 18 der 29 VUS zeigten als molekulare Konsequenz eine Missense Mutation.

3 der gefundenen VUS (c.681+56C>T, c.9257-113T>G, c.7008-62A>G) wurden mittels Befundaktualisierung 2011 als benigne eingestuft. VUS, welche markiert sind (\*) werden auch in der ClinVar Datenbank als VUS eingestuft, nicht markierte werden in der ClinVar Datenbank aktuell als benigne gelistet.

Tabelle 11 Varianten unbestimmter Signifikanz im PatientInnenkollektiv.

GEN	Nukleotid	Anzahl	Aminosäure	Variante	Konsequenz
<b>BRCA1</b>	c.1067A>G	4	p.Gln356Arg	Single Nukleotid	Missense
	c.4956G>A	1	p.Met1652Ile	Single Nukleotid	Missense
	c.3119G>A	1	p.Ser1040Asn	Single Nukleotid	Missense
	c.3823A>G *	1	p.Ile1275Val	Single Nukleotid	Missense
<b>BRCA2</b>	c.681+56C>T	2		Single Nukleotid	Intron Variant
	c.9257-113T>G	1		Single Nukleotid	Intron Variant
	c.7008-62A>G *	1		Single Nukleotid	Intron Variant
	c.4068G>A	2	p.Leu1356=	Single Nukleotid	Synonymous Variant
	c.9257-16T>C	1		Single Nukleotid	Intron Variant
	c.6841+80_83delTTAA	1		Deletion	Intron Variant
	c.1627C>A *	1	p.His543Asn	Single Nukleotid	Missense
	c.4258G>T	1	p.Asp1420Tyr	Single Nukleotid	Missense
	c.8687G>A *	1	p.Arg2896His	Single Nukleotid	Missense
	c.1792A>G *	1	p.Thr598Ala	Single Nukleotid	Missense
	c.442T>C *	1	p.Cys148Arg	Single Nukleotid	Missense
	c.1151C>T	1	p.Ser384Phe	Single Nukleotid	Missense
	c.8090G>A *	1	p.Ser2697Asn	Single Nukleotid	Missense
	c.6100C>T	1	p.Arg2034Cys	Single Nukleotid	Missense
	c.8850G>T *	1	p.Lys2950Asn	Single Nukleotid	Missense
	c.9104A>C *	1	p.Tyr3035Cys	Single Nukleotid	Missense
<b>PALB2</b>	c.2014G>C	1	p.Glu672Gln	Single Nukleotid	Missense
	c.2993G>A	1	p.Gly998Glu	Single Nukleotid	Missense
	c.1544A>G *	1	p.Lys515Arg	Single Nukleotid	Missense
<b>RAD50</b>	c.1891G>A *	1	p.Asp631Asn	Single Nukleotid	Missense
		<b>N=29</b>			

## 3.4 Mammakarzinom und BRCA Mutation

### 3.4.1 Häufigkeit der Mammakarzinome und Mutationsstatus

Insgesamt erkrankten 88 Personen aus dem PatientInnenkollektiv an einem Mammakarzinom. Bei 37 erkrankten Personen wurde zumindest eine Mutation oder VUS nachgewiesen und bei 51 erkrankten Personen konnte keine Mutation gefunden werden. Davon konnte bei 11 (50%) der 22 BRCA1 MutationsträgerInnen und 11 (78,6%) der 14 BRCA2 MutationsträgerInnen ein Mammakarzinom eruiert werden. 15 (83,3%) der 18 Testpersonen mit nachgewiesener VUS erkrankten ebenfalls.

Von den 88 Mammakarzinomen im PatientInnenkollektiv traten 73 (83%) unilateral und 15 (17%) bilateral auf. Von den 11 BRCA1 assoziierten Karzinomen waren 8 (72,7%) unilateral und 3 (27,3%) bilateral. Bei den 11 BRCA2 assoziierten Karzinomen zeigten sich 10 (90,9%) unilateral und eines (9,1%) bilateral.

Von den 15 Karzinomen der VUS MutationsträgerInnen zeigten sich 11 (73,3%) unilateral und 4 (26,7%) bilateral. Die 51 sporadischen Karzinome ohne nachgewiesene Mutation präsentierten sich als 44 (86,3%) unilaterale und 7 (13,7%) bilaterale Mammakarzinome. (Tabelle 12)

Bilaterale Karzinome traten in dieser Kohorte mit 27,3% (N= 3) bei BRCA1 MutationsträgerInnen am häufigsten auf.

### 3.4.2 Erkrankungsalter und Mutationsstatus

Im Vergleich zum durchschnittlichen Erkrankungsalter aller an einem Mammakarzinom erkrankten Testpersonen (M=46,3; SD=11,9) präsentierte sich das durchschnittliche Erkrankungsalter bei BRCA1 MutationsträgerInnen mit (M=43,3; SD=10,3) niedriger und das Erkrankungsalter bei BRCA2 MutationsträgerInnen in dieser Stichprobe höher (M=47,5; SD= 14,2).

Das durchschnittliche Erkrankungsalter von Testpersonen mit nachgewiesener VUS betrug 48,5 Jahre und war somit höher als bei den Testpersonen mit einem negativen Mutationsstatus (M=46,1). (Tabelle 12).

*Tabelle 12 Erkrankungsalter und Häufigkeit bilateraler Karzinome bei BRCA1/2 Mutation.*

	Patientenkollektiv (N=)	BRCA1	BRCA2	VUS	keine Mutation
<b>Mammakarzinome gesamt</b>	88	11	11	15	51
<b>unilateral</b>	73	72,7% (8)	90,9% (10)	73,3% (11)	86,3% (44)
<b>bilateral</b>	15	27,3% (3)	9,1% (1)	26,7% (4)	13,7% (7)
<b>Durchschnittliches Erkrankungsalter in Jahren</b>	46,3	43,3	47,5	48,5	46,1

## **3.5 Histopathologische Parameter und BRCA Mutation**

### **3.5.1 Differenzierungsgrad der Mammakarzinome**

Von den 88 an einem Mammakarzinom erkrankten Testpersonen konnte von 83 der Differenzierungsgrad ermittelt werden. Bei 41/88 PatientInnen zeigte sich ein hoher Differenzierungsgrad. Bei den anderen 5 Personen konnte der Differenzierungsgrad aufgrund fehlender Befunde nicht eruiert werden.

Tabelle 13 zeigt den Vergleich der verschiedenen Gruppen.

Bei den Erkrankten BRCA1 MutationsträgerInnen zeigte sich bei 8/11 PatientInnen ein hoher Differenzierungsgrad und bei den erkrankten Personen der BRCA2 MutationsträgerInnen zeigte sich bei 6/11 ein hoher Differenzierungsgrad.

Ein hoher Differenzierungsgrad konnte bei 7/15 PatientInnen mit nachgewiesener VUS ermittelt werden. Bei den 51 Mammakarzinom PatientInnen ohne nachgewiesene Mutation präsentierte sich ein hoher Differenzierungsgrad in 20/51 Fällen.

Ein Grad 1 Mammakarzinom konnte bei nachgewiesener BRCA1/2 Mutation im PatientInnenkollektiv nicht ermittelt werden. Es zeigte sich bei Mammakarzinomen von BRCA1 MutationsträgerInnen mit 72,8%, verglichen mit den anderen Gruppen, am häufigsten ein Grade3 Mammakarzinom.

### 3.5.2 Stadien der Mammakarzinome

Mammakarzinome können je nach TNM Klassifikation in verschiedene Stadien eingeteilt werden. Die American Cancer Society unterscheidet folgende Stadien:

Stadium 0= Tis,N0,M0

Stadium 1= T1,N0,M0

Stadium 2a= T0/1,N1,M0 oder T2,N0,M0

Stadium 2b= T2,N1,M0 oder T3,N0,M0

Stadium 3a= T0-2,N2,M0 oder T3,N1/2,M0

Stadium 3b= T4,N0-N2,M0

Stadium 3c= T1-4,N3,M0

Stadium 4= T1-4, N0-N3,M1 [12].

Diese Einteilung wurde auch in Tabelle 13 verwendet, um eine grobe Einteilung des Erkrankungsstadiums und den Zusammenhang mit dem Mutationsstatus darzustellen. Klinisch bedeutsamer ist die Einteilung nach molekularen Subtypen (Luminal A/B usw.). Da der Ki67-Wert von vielen PatientInnen nicht eruiert werden konnte, wurde auf eine Einteilung nach molekularen Subtypen verzichtet.

Von den 88 erkrankten Testpersonen konnte von 70 das Stadium der Erkrankung ermittelt werden.

Eine Stadium0 (TisN0M0) Erkrankung trat dabei mit 15,7% und eine Stadium1 (T1N0M0) Erkrankung mit 39,2% am häufigsten bei Nicht-MutationsträgerInnen auf. Erkrankte Personen der BRCA1/2 MutationsträgerInnen zeigten nie eine Stadium0 Erkrankung in dieser Kohorte.

Tabelle 13 Grade und Tumorstadien im PatientInnenkollektiv.

	Patientenkollektiv (N=)	BRCA1	BRCA2	VUS	keine Mutation
<b>Mammakarzinome</b>	88	11	11	15	51
<b>GRADE</b>					
1	5	0	0	6,7% (1)	7,8% (4)
2	37	18,2% (2)	36,4% (4)	40% (6)	49% (25)
3	41	72,7% (8)	54,5% (6)	46,7% (7)	39,2% (20)
kein Befund	5	9,1% (1)	9,1% (1)	6,7% (1)	3,9% (2)
<b>STADIUM</b>					
0	9	0	0	6,7% (1)	15,7% (8)
1	32	27,3% (3)	27,3% (3)	26,7% (4)	39,2% (20)
2a	20	36,4% (4)	27,3% (3)	40% (6)	17,6% (9)
2b	5	18,2% (2)	9,1% (1)	0	3,9% (2)
3a	1	0	0	0	2% (1)
3b	2	0	0	6,7% (1)	2% (1)
3c	1	0	9,1% (1)	0	0
4	0	0	0	0	0
kein Befund	18	18,2% (2)	27,3% (3)	20% (3)	19,6% (10)

### 3.5.3 Ki67 Wert und Rezeptorstatus der Mammakarzinome

#### Ki67 Wert

Von 38/88 erkrankten Personen konnte der Ki67 Index ermittelt werden. Der durchschnittliche Ki67 Wert liegt für BRCA1 MutationsträgerInnen bei (M=47,75%) und für BRCA2 MutationsträgerInnen bei (M= 27%). Für VUS MutationsträgerInnen und erkrankte Personen ohne nachgewiesene Mutation konnten folgende durchschnittliche Ki67 Werte ermittelt werden: (VUS: M= 22,71%; keine Mutation: M= 23,71%). Der Ki67 Wert wurde für eine bessere Tabellenübersicht auf eine ganze Zahl gerundet (Tabelle 14).

Somit konnte für diese Stichprobe gezeigt werden, dass der durchschnittliche Ki67 Index für BRCA1 MutationsträgerInnen höher liegt als bei einem anderen Mutationsstatus.

#### Rezeptorstatus

Die Mehrzahl der BRCA1 Karzinome in der Stichprobe zeigten mit 54,5% (N= 6) sowohl einen negativen Östrogenrezeptorstatus als auch mit 63,3% (N= 7) einen negativen Progesteronrezeptorstatus. Auch ein negativer HER2 Status kam bei den Testpersonen mit BRCA1 Mutation mit 90,9% (N=10) am häufigsten vor. Triple negative Mammakarzinome (ER/PR/HER2 negativ) traten bei 6 BRCA1 MutationsträgerInnen (54,5%), bei 2 BRCA2 MutationsträgerInnen (18,2%) und bei 15 sporadischen Mammakarzinomen auf (29,4%). (Tabelle 14).

Tabelle 14 Rezeptorstatus und Ki67 im PatientInnenkollektiv.

	Patientenkollektiv (N=)	BRCA1	BRCA2	VUS	keine Mutation
<b>Mammakarzinome</b>	88	11	11	15	51
<b>ER+</b>	47	36,4% (4)	63,3% (7)	60% (9)	52,9% (27)
<b>ER-</b>	34	54,5% (6)	27,3% (3)	26,7% (4)	41,2% (21)
kein Befund	7	1	1	2	3
<b>PR+</b>	40	27,3% (3)	36,4% (4)	53,3% (8)	49% (25)
<b>PR-</b>	41	63,3% (7)	54,5% (6)	33,3% (5)	45,1% (23)
kein Befund	7	1	1	2	3
<b>HER2+</b>	10	0	36,4% (4)	0	11,8% (6)
<b>HER2-</b>	67	90,9% (10)	54,5% (6)	86,7% (13)	74,5% (38)
kein Befund	11	1	1	2	7
<b>Durchschnittlicher Ki67 Index</b>	36%	48%	27%	23%	24%

## 4 Diskussion

In dieser Arbeit wurde ein PatientInnenkollektiv untersucht welches im Brustgesundheitszentrum des LKH Hochsteiermark Standort Leoben zwischen 2010 und Mai 2017 genetisch beraten und getestet wurde. Obwohl auch in dieser Kohorte Daten von hauptsächlich weiblichen Testpersonen analysiert wurden, darf auf keinen Fall das männliche Mammakarzinom außer Acht gelassen werden, welches selten auftritt, jedoch immer noch mit einer schlechteren Prognose assoziiert ist.

### 4.1 Mutationshäufigkeiten und Erkrankungsalter

Die Prävalenz der nachgewiesenen BRCA1 Mutationen war in dieser Kohortenstudie höher als die der BRCA2 Mutationen, wie auch bereits in der Arbeit von *Pederson HJ et al.* beschrieben [21]. Bei 22 Personen (16,3%) konnte eine BRCA1 Mutation nachgewiesen werden und bei 14 Testpersonen (10,4%) eine BRCA2 Mutation. Diese Verteilung der BRCA1/2 Mutationen deckt sich mit den Angaben in der Arbeit von *Stoppa-Lyonnet D.*, in welcher eine BRCA Mutation mit etwa 12-15% angegeben wird [32].

*Arpino G. et al.* zeigten, dass BRCA assoziierte Karzinome generell einen früheren Diagnosezeitpunkt aufweisen, Personen also in einem jüngeren Alter erkranken [39]. In diesem PatientInnenkollektiv zeigte sich dieser Zusammenhang nur für BRCA1 MutationsträgerInnen (M=43,3 Jahre) im Vergleich mit sporadischen Erkrankungen (M=46,1 Jahre).

## 4.2 Tumorcharakteristika

In dieser Kohorte konnte, wie auch *Meindl A. et al.* beschreiben, gezeigt werden, dass BRCA1 MutationsträgerInnen (27,3%) häufiger ein bilaterales Mammakarzinom entwickeln als BRCA2 MutationsträgerInnen (9,1%) [40].

Im Testkollektiv konnte ebenfalls, wie bei *Arpino G. et al.* beschrieben, kein signifikanter Zusammenhang zwischen Tumorstadium und einer BRCA Mutation oder sporadischen Erkrankungen ermittelt werden [39].

Die BRCA1/2 assoziierte Mammakarzinome im PatientInnenkollektiv zeigten insgesamt einen höheren Differenzierungsgrad als die sporadischen Karzinome. BRCA1 Karzinome zeigten keine HER2 Überexpression/Amplifikation, wie bereits in den Arbeiten von *Da Silva L. et al.* und *Melchor L. et al.* aufgezeigt wurde [30],[36].

*Spurdle AB et al.* zeigten über großen Studien der Datensätze von CIMBA, BCAC und ENIGMA auf, dass BRCA1 assoziierte Mammakarzinome meist ER-negativ sind und der TNBC Subtyp besonders häufig auftritt [41]. Auch im analysierten Kollektiv waren BRCA1 Tumore mit 90,9% HER2 negativ, sowie am häufigsten mit 54,5% ER-negativ und mit 63,3% PR-negativ.

### 4.3 Korrelationsanalysen

Die mittels SPSS durchgeführten Korrelationsanalysen nach Pearson und Spearman ergaben keinen signifikanten Zusammenhang zwischen uni/bilateralem Auftreten der Mammakarzinome und dem Mutationsstatus ( $p > .05$ ).

Die Korrelationsanalyse nach Spearman ergab einen signifikanten Zusammenhang ( $p < .05$ ) zwischen dem Erstdiagnosealter der erkrankten Testpersonen und dem Differenzierungsgrad. Ein jüngeres Alter bei Diagnosestellung war mit einem höheren Differenzierungsgrad assoziiert.

Dies korreliert gut mit dem Zusammenhang, dass BRCA1 MutationsträgerInnen meist jünger erkranken und öfter einen höheren Tumorgrad bei Diagnosestellung aufweisen als die sporadischen Karzinome, was bereits in der Arbeit von *Arpino G. et al.* beschrieben wird [39].

Ebenso zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen Differenzierungsgrad und ER/PR Status ( $p < .01$ ). Je höher der Differenzierungsgrad des Tumors, desto eher zeigte sich ein negativer Hormonrezeptorstatus (ER-negativ:  $r = -.481$  und PR-negativ:  $r = -.495$ ).

Ebenso zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen HER2 positiven Karzinomen und dem ER-positiven ( $r = .369$ ) und PR-positiven ( $r = .318$ ) Rezeptorstatus ( $p < .01$ ). War ein Mammakarzinom im Testkollektiv HER2 positiv, wies es mit hoher Wahrscheinlichkeit ebenso einen positiven Östrogen- und/oder Progesteronrezeptor auf.

#### 4.4 Varianten unbestimmter Signifikanz und klinische Relevanz

VUS stellen bei der genetischen Beratung und Testung im klinischen Setting immer noch eine große Herausforderung dar.

*Darooei M. et al.* beschreiben, dass 10-20% aller gefundenen Mutationen VUS sind [33]. In dieser Stichprobe konnte bei 18 Personen (13,3%) mindestens eine VUS ermittelt werden.

14 der 22 gefundenen VUS im PatientInnenkollektiv waren Missense Mutationen (4 BRCA1; 10 BRCA2). Auch *Eeles RA.* beschreiben, dass sich viele VUS als sogenannte Missense Mutationen präsentieren, welche zum Einbau einer anderen Aminosäure führen [35].

Wichtig scheint auf alle Fälle die Zusammenarbeit verschiedener internationaler Netzwerke und die fortlaufende Aktualisierung genetischer Datenbanken zu sein. Nur so kann eine genetische Beratung bezüglich einer VUS modifiziert und immer angelehnt an die neuesten Forschungserkenntnisse erfolgen.

Besonders die Zuordnung des Krankheitsrisikos zu bestimmten Sequenzvarianten von BRCA1/2, vor allem aber wenn die Pathogenität unsicher ist (VUS), ist schwierig. Es erfordert, wie auch *Walsh MF. et al.* beschreiben, eine laufende Aktualisierung von internationalen Datenbanken bzw. Algorithmen, um eine quantitative Risikoeinschätzung von VUS zu ermöglichen [28].

Auch *Eccles DM. et al.* betonen in ihrer Arbeit nochmals die Notwendigkeit einer international gültigen Datenbank, sowie einer uniformen Formatierung von BRCA Testresultaten, um Varianten und deren Pathogenität zu klassifizieren [47].

Sowohl *Eccles DM. et al.* und *Richards S. et al.* empfehlen einen multifaktoriellen Ansatz zur Interpretation von Sequenzvarianten, also die Kombination verschiedener Softwareprogramme sowie die Notwendigkeit der Kontaktherstellung zwischen dem/der Kliniker/in und dem/der Genetiker/in, wenn eine VUS definitiv als nicht-pathogen oder klinisch relevant klassifiziert wird [47],[51].

VUS sollten mit Bedacht bewertet werden und die klinische Relevanz von Genvarianten sollte, wie auch *Richard S. et al.* beschreiben, immer in Kontext mit der PatientInnen- und Familienanamnese, sowie der klinischen Einschätzung gewertet werden. Bis eine eindeutige Klassifikation der Variante möglich ist, sollten VUS nicht verwendet werden, um klinische Entscheidungen zu treffen [51]. Es scheint durchaus sinnvoll, PatientInnen zur neuerlichen Testung einzuberufen, wenn neuere Genom- Sequenzanalysemethoden möglich sind. Daher sollten mit den PatientInnen bereits im Vorfeld alle möglichen genetischen Testergebnisse, inklusive VUS, besprochen werden, wie auch *Eccles DM. et al.* in ihrer Arbeit beschreiben [47].

## 5 Literaturverzeichnis

1. WHO [cited 2017 Mar 20]. Available from: URL: <http://www.who.int/cancer/detection/breastcancer/en/>.
2. Arbeitsgemeinschaft für Gynäkologische Onkologie der OEGGG. Manual der Gynäkologischen Onkologie; 2017 [cited 2017 Dec 26]. Available from: URL: <http://manual.ago-austria.at/>.
3. Statistik Austria [cited 2017 Mar 20]. Available from: URL: [http://www.statistik.at/web\\_de/statistiken/menschen\\_und\\_gesellschaft/gesundheit/krebserkrankungen/brust/index.html](http://www.statistik.at/web_de/statistiken/menschen_und_gesellschaft/gesundheit/krebserkrankungen/brust/index.html).
4. Bundesministerium für Gesundheit und Frauen [cited 2017 Mar 23]. Available from: URL: [http://www.bmgf.gv.at/cms/home/attachments/0/6/3/CH1480/CMS1422957020341/bericht\\_krebsprognose\\_3\\_2\\_2015.pdf](http://www.bmgf.gv.at/cms/home/attachments/0/6/3/CH1480/CMS1422957020341/bericht_krebsprognose_3_2_2015.pdf).
5. Meden H. Mammakarzinom: Neue Aspekte zur Diagnostik und Therapie. Berlin, New York: Walter De Gruyter; 2009:19.
6. Kreienberg R, Möbus V, Jonat W, Kühn T. Mammakarzinom Interdisziplinär. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2010:3-9.
7. Bauerfeind I, editor. Mammakarzinome: Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge. 15. Auflage. Germering bei München: W. Zuckschwerdt Verlag; 2015.
8. Wallwiener O et al. Gynäkologische Onkologie. Stuttgart: Schattauer; 2017:24-34.
9. Makki J. Diversity of Breast Carcinoma: Histological Subtypes and Clinical Relevance. Clin Med Insights Pathol 2015; 8:23–31.
10. Malhotra GK, Zhao X, Band H, Band V. Histological, molecular and functional subtypes of breast cancers. Cancer Biology & Therapy 2014; 10(10):955–60.
11. Sinn H-P, Kreipe H. A Brief Overview of the WHO Classification of Breast Tumors, 4th Edition, Focusing on Issues and Updates from the 3rd Edition. Breast Care (Basel) 2013; 8(2):149–54.
12. American Cancer Society (ACS) [cited 2017 Apr 3]. Available from: URL: <https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/understanding-a-breast-cancer-diagnosis/stages-of-breast-cancer.html>.
13. Singletary SE. Rating the risk factors for breast cancer. Ann Surg 2003; 237(4):474–82.
14. Martin A-M. Genetic and Hormonal Risk Factors in Breast Cancer. Journal of the National Cancer Institute 2000; 92(14):1126–35.
15. Jeronimo AFdA, Freitas AGQ, Weller M. Risk factors of breast cancer and knowledge about the disease: an integrative revision of Latin American studies. Cien Saude Colet 2017; 22(1):135–49.
16. Ataollahi MR, Sharifi J, Paknahad MR, Paknahad A. Breast cancer and associated factors: a review. J Med Life 2015; 8(Spec Iss 4):6–11.
17. Hankinson SE, Colditz GA, Willett WC. Towards an integrated model for breast cancer etiology: the lifelong interplay of genes, lifestyle, and hormones. Breast Cancer Res 2004; 6(5):213–8.

18. Heisey R, Carroll JC. Identification and management of women with a family history of breast cancer: Practical guide for clinicians. *Can Fam Physician* 2016; 62(10):799–803.
19. Wittersheim M, Büttner R, Markiefka B. Genotype/Phenotype correlations in patients with hereditary breast cancer. *Breast Care (Basel)* 2015; 10(1):22–6.
20. Singer CF, Tea MK, Pristauz G, Hubalek M, Rappaport C, Riedl CC et al. Clinical Practice Guideline for the prevention and early detection of breast and ovarian cancer in women from HBOC (hereditary breast and ovarian cancer) families. *Wien Klin Wochenschr* 2015; 127(23-24):981–6.
21. Pederson HJ, Padia SA, May M, Grobmyer S. Managing patients at genetic risk of breast cancer. *Cleve Clin J Med* 2016; 83(3):199–206.
22. Pruthi S, Gostout BS, Lindor NM. Identification and Management of Women With BRCA Mutations or Hereditary Predisposition for Breast and Ovarian Cancer. *Mayo Clin Proc* 2010; 85(12):1111–20.
23. Sheikh A, Hussain SA, Ghorri Q, Naeem N, Fazil A, Giri S et al. The spectrum of genetic mutations in breast cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015; 16(6):2177–85.
24. Karami F, Mehdipour P. A comprehensive focus on global spectrum of BRCA1 and BRCA2 mutations in breast cancer. *Biomed Res Int* 2013; 2013:928562.
25. Apostolou P, Fostira F. Hereditary breast cancer: the era of new susceptibility genes. *Biomed Res Int* 2013; 2013:747318.
26. Aloraifi F, Alshehhi M, McDevitt T, Cody N, Meany M, O'Doherty A et al. Phenotypic analysis of familial breast cancer: comparison of BRCAx tumors with BRCA1-, BRCA2-carriers and non-familial breast cancer. *Eur J Surg Oncol* 2015; 41(5):641–6.
27. Petrucelli N, Daly MB, Pal T. BRCA1- and BRCA2-Associated Hereditary Breast and Ovarian Cancer.[Updated 2016 Dez 15] In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJH et al., editors. *GeneReviews*(®). Seattle (WA); 1993-2018.
28. Walsh MF, Nathanson KL, Couch FJ, Offit K. Genomic Biomarkers for Breast Cancer Risk. *Adv Exp Med Biol* 2016; 882:1–32.
29. Roy R, Chun J, Powell SN. BRCA1 and BRCA2: different roles in a common pathway of genome protection. *Nat Rev Cancer* 2011; 12(1):68–78.
30. Da Silva L, Lakhani SR. Pathology of hereditary breast cancer. *Mod Pathol* 2010; 23 Suppl 2:S46-51.
31. Zeichner SB, Stanislaw C, Meisel JL. Prevention and Screening in Hereditary Breast and Ovarian Cancer. *Oncology (Williston Park, N Y )* 2016; 30(10):896–904.
32. Stoppa-Lyonnet D. The biological effects and clinical implications of BRCA mutations: where do we go from here? *Eur J Hum Genet* 2016; 24 Suppl 1:S3-9.
33. Darooei M, Poornima S, Salma BU, Iyer GR, Pujar AN, Annapurna S et al. Pedigree and BRCA gene analysis in breast cancer patients to identify hereditary breast and ovarian cancer syndrome to prevent morbidity and mortality of disease in Indian population. *Tumour Biol* 2017; 39(2):1010428317694303.
34. Rebbeck TR, Mitra N, Wan F, Sinilnikova OM, Healey S, McGuffog L et al. Association of type and location of BRCA1 and BRCA2 mutations with risk of breast and ovarian cancer. *JAMA* 2015; 313(13):1347–61.
35. Eeles RA. Future possibilities in the prevention of breast cancer: intervention strategies in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Breast Cancer Res* 2000; 2(4):283–90.

36. Melchor L, Benítez J. An integrative hypothesis about the origin and development of sporadic and familial breast cancer subtypes. *Carcinogenesis* 2008; 29(8):1475–82.
37. Pal T, Vadaparampil ST. Genetic risk assessments in individuals at high risk for inherited breast cancer in the breast oncology care setting. *Cancer Control* 2012; 19(4):255–66.
38. Rieder V, Salama M, Glöckner L, Muhr D, Berger A, Tea M-K et al. Effect of lifestyle and reproductive factors on the onset of breast cancer in female BRCA 1 and 2 mutation carriers. *Mol Genet Genomic Med* 2016; 4(2):172–7.
39. Arpino G, Pensabene M, Condello C, Ruocco R, Cerillo I, Lauria R et al. Tumor characteristics and prognosis in familial breast cancer. *BMC Cancer* 2016; 16(1):924.
40. Meindl A, Ditsch N, Kast K, Rhiem K, Schmutzler RK. Hereditary breast and ovarian cancer: new genes, new treatments, new concepts. *Dtsch Arztebl Int* 2011; 108(19):323–30.
41. Spurdle AB, Couch FJ, Parsons MT, McGuffog L, Barrowdale D, Bolla MK et al. Refined histopathological predictors of BRCA1 and BRCA2 mutation status: a large-scale analysis of breast cancer characteristics from the BCAC, CIMBA, and ENIGMA consortia. *Breast Cancer Res* 2014; 16(6):3419.
42. Mavaddat N, Barrowdale D, Andrulis IL, Domchek SM, Eccles D, Nevanlinna H et al. Pathology of breast and ovarian cancers among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from the Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2 (CIMBA). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012; 21(1):134–47.
43. Burgess M, Puhalla S. BRCA 1/2-Mutation Related and Sporadic Breast and Ovarian Cancers: More Alike than Different. *Front Oncol* 2014; 4:19.
44. Stan DL, Shuster LT, Wick MJ, Swanson CL, Pruthi S, Bakkum-Gamez JN. Challenging and complex decisions in the management of the BRCA mutation carrier. *J Womens Health (Larchmt)* 2013; 22(10):825–34.
45. Daly MB, Pilarski R, Berry M, Buys SS, Farmer M, Friedman S et al. NCCN Guidelines Insights: Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast and Ovarian, Version 2.2017. *J Natl Compr Canc Netw* 2016; 15(1):9–20.
46. Couch FJ, Shimelis H, Hu C, Hart SN, Polley EC, Na J et al. Associations Between Cancer Predisposition Testing Panel Genes and Breast Cancer. *JAMA Oncol* 2017.
47. Eccles DM, Mitchell G, Monteiro ANA, Schmutzler R, Couch FJ, Spurdle AB et al. BRCA1 and BRCA2 genetic testing-pitfalls and recommendations for managing variants of uncertain clinical significance. *Ann Oncol* 2015; 26(10):2057–65.
48. Wang X, Pankratz VS, Fredericksen Z, Tarrell R, Karaus M, McGuffog L et al. Common variants associated with breast cancer in genome-wide association studies are modifiers of breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Hum Mol Genet* 2010; 19(14):2886–97.
49. Hamdi Y, Soucy P, Kuchenbaecker KB, Pastinen T, Droit A, Lemaçon A et al. Association of breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers with genetic variants showing differential allelic expression: identification of a modifier of breast cancer risk at locus 11q22.3. *Breast Cancer Res Treat* 2017; 161(1):117–34.
50. Gómez García EB, Oosterwijk JC, Timmermans M, van Asperen CJ, Hogervorst FBL, Hoogerbrugge N et al. A method to assess the clinical significance of unclassified variants in the BRCA1 and BRCA2 genes based on cancer family history. *Breast Cancer Res* 2009; 11(1):R8.

51. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015; 17(5):405–24.
52. Szabo C, Masiello A, Ryan JF, Brody LC. The Breast Cancer Information Core: Database design, structure, and scope. *Hum. Mutat.* 2000; 16(2):123–31.
53. Cox DG, Simard J, Sinnett D, Hamdi Y, Soucy P, Ouimet M et al. Common variants of the BRCA1 wild-type allele modify the risk of breast cancer in BRCA1 mutation carriers. *Hum Mol Genet* 2011; 20(23):4732–47.
54. Stenson PD, Mort M, Ball EV, Evans K, Hayden M, Heywood S et al. The Human Gene Mutation Database: towards a comprehensive repository of inherited mutation data for medical research, genetic diagnosis and next-generation sequencing studies. *Hum Genet* 2017; 136(6):665–77.
55. Lynch JA, Venne V, Berse B. Genetic tests to identify risk for breast cancer. *Semin Oncol Nurs* 2015; 31(2):100–7.
56. Kiechle M, Engel C, Berling A, Hebestreit K, Bischoff S, Dukatz R et al. Lifestyle intervention in BRCA1/2 mutation carriers: study protocol for a prospective, randomized, controlled clinical feasibility trial (LIBRE-1 study). *Pilot Feasibility Stud* 2016; 2:74.
57. Ropka ME, Wenzel J, Phillips EK, Siadaty M, Philbrick JT. Uptake rates for breast cancer genetic testing: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15(5):840–55.
58. Allain DC, Sweet K, Agnese DM. Management options after prophylactic surgeries in women with BRCA mutations: a review. *Cancer Control* 2007; 14(4):330–7.
59. Soerjomataram I, Louwman MWJ, Ribot JG, Roukema JA, Coebergh JWW. An overview of prognostic factors for long-term survivors of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2008; 107(3):309–30.
60. Zhong Q, Peng H-L, Zhao X, Zhang L, Hwang W-T. Effects of BRCA1- and BRCA2-related mutations on ovarian and breast cancer survival: a meta-analysis. *Clin Cancer Res* 2015; 21(1):211–20.
61. Templeton AJ, Gonzalez LD, Vera-Badillo FE, Tibau A, Goldstein R, Šeruga B et al. Interaction between Hormonal Receptor Status, Age and Survival in Patients with BRCA1/2 Germline Mutations: A Systematic Review and Meta-Regression. *PLoS ONE* 2016; 11(5):e0154789.
62. Smith KL, Isaacs C. BRCA mutation testing in determining breast cancer therapy. *Cancer J* 2011; 17(6):492–9.
63. Watts KJ, Meiser B, Mitchell G, Kirk J, Saunders C, Peate M et al. How should we discuss genetic testing with women newly diagnosed with breast cancer? Design and implementation of a randomized controlled trial of two models of delivering education about treatment-focused genetic testing to younger women newly diagnosed with breast cancer. *BMC Cancer* 2012; 12:320.
64. Mohamed A, Krajewski K, Cakar B, Ma CX. Targeted therapy for breast cancer. *Am J Pathol* 2013; 183(4):1096–112.
65. Kast K, Rhiem K. Familial breast cancer - targeted therapy in secondary and tertiary prevention. *Breast Care (Basel)* 2015; 10(1):27–31.
66. Nestle C, Kühn T. Role of Breast Surgery in BRCA Mutation Carriers. *Breast Care (Basel)* 2012; 7(5):378–82.

67. Kuchenbaecker KB, Neuhausen SL, Robson M, Barrowdale D, McGuffog L, Mulligan AM et al. Associations of common breast cancer susceptibility alleles with risk of breast cancer subtypes in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Breast Cancer Res* 2014; 16(6):3416.

68. Tria M. Breast cancer screening update. *Am Fam Physician* 2013; 87(4):274–8.