

Diplomarbeit

**UNTERSUCHUNG VON
KEIMBAHNPOLYMORPHISMEN ZUR VORHERSAGE
VON METASTASIERUNG BEI BRUSTKREBS
(Analysis of Germline Polymorphisms to predict
Breast Cancer Metastasis)**

eingereicht von

HANNES WILHELM KRAKER

Matr.Nr.: 0211618

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Klinischen Abteilung für Onkologie

Auenbruggerplatz 15, A-8036 Graz, Österreich

unter der Anleitung von

Priv.-Doz. Dr. med. univ. Gerger Armin

Priv.-Doz. Dr. med. univ. Tanja Langsenlehner

Graz, im März 2010

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.

Graz, am 29. März 2010

1 Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei allen bedanken, die mich durch mein Studium geführt und begleitet haben – viele von euch sind mir sehr ans Herz gewachsen! Besonderer Dank dabei gilt meinen Eltern, die mir nicht nur finanziell sondern auch mit ihrem Vertrauen und dem Zuhause, das sie mir immer bieten, meine Studienzeit zu diesem angenehmen und erfahrungsreichen Abschnitt meines Lebens gemacht haben. In gleichem Maße danke ich auch meiner Schwester Gloria und Thomas für ihre Unterstützung in allen Lebenslagen!

Ein herzliches Dankeschön auch meinem Diplomarbeitbetreuer Dr. Gerger Armin, den ich bei einer Famulatur kennengelernt habe und der mich bei dieser Arbeit bestens betreut hat!

2 Zusammenfassung

Genetische Polymorphismen sind für inter-individuelle Variationen verantwortlich und scheinen einen beachtlichen Einfluss auf Krebsentstehung und Prognose zu haben. In dieser Studie wurden Keimbahnpolymorphismen in 7 Genen, die maßgeblich an Folatmetabolismus, Zellproliferation und Apoptose, Prostaglandinsynthese, Detoxifikation und Entzündungsmechanismen beteiligt sind, untersucht. DNA von 432 Patientinnen mit Brustkrebs wurde genotypisiert. Der Zusammenhang von 8 Keimbahnpolymorphismen mit krankheitsfreiem Überleben wurde mittels univariater und multivariater Cox-Regressionsanalyse untersucht. Die Adjustierung der multivariaten Regressionsanalyse erfolgte durch bekannte prognostische Faktoren. Das seltene Allel von IL-10 592C>A war signifikant mit kürzerem krankheitsfreiem Überleben assoziiert (P = 0.018, RR (Risk Ratio of Recurrence) = 1.45; 95% Konfidenzintervall (CI) = 1.06 - 1.98). Das Resultat wurde nach Adjustierung des Regressionsmodells durch Alter bei Diagnose, Tumorgröße, Lymphknotenstatus, klinisches Stadium, histologisches Grading, Östrogenrezeptorstatus, Progesteronrezeptorstatus und Behandlungsmodalitäten nicht beeinflusst (P = 0.019, RR = 1.48, 95% CI = 1.066 - 2.044). Es konnte kein Zusammenhang zwischen krankheitsfreiem Überleben und MTHFR 677C>T, TGFB1 29T>C, FASLG 844C>T, FAS 1377G>A, FAS 670A>G, PTGS2 8473T>C und SULT1A1 638G>A gezeigt werden. Unsere Daten zeigen, dass das seltene Allel von IL-10 592C>A ein möglicher unabhängiger prognostischer Marker für krankheitsfreies Überleben bei Patientinnen mit Brustkrebs ist.

3 Abstract

Genetic polymorphisms are responsible for inter-individual variations and diversities. They have been recently considered as the main genetic elements involved in the development and progression of cancer. We analysed associations between common germline genetic variants in 7 genes which are involved in folate metabolism, cell proliferation and apoptosis, prostaglandin synthesis, detoxification of compounds as well as inflammation, and disease free survival among women diagnosed with invasive breast cancer. DNA of up to 432 women was genotyped for 8 polymorphisms. The genotypes of each polymorphism were tested for association with disease-free survival using univariate and multivariate Cox regression analysis. The model was adjusted for known breast cancer prognostic factors. The rare allele of the IL-10 592C>A polymorphism was significantly associated with poor disease-free survival ($P = 0.018$, risk ratio of recurrence (RR) = 1.45, 95% confidence interval (CI) = 1.06 to 1.98), which was not attenuated after adjusting for age at diagnosis, tumor size, lymph node status, clinical stage, histological grade, estrogen receptor status, progesterone receptor status and treatment modalities ($P = 0.019$, RR = 1.48, 95% CI = 1.066 to 2.044). No association was found for MTHFR 677C>T, TGFB1 29T>C, FASLG 844C>T, FAS 1377G>A, FAS 670A>G, PTGS2 8473T>C and SULT1A1 638G>A polymorphisms and disease-free survival. Our data suggest that the rare allele of IL-10 592C>A is an independent prognostic marker in breast cancer for disease-free survival.

4 Inhaltsverzeichnis

1	Danksagung	iii
2	Zusammenfassung	iv
3	Abstract	v
4	Inhaltsverzeichnis	vi
5	Abkürzungsverzeichnis	ix
6	Tabellen- und Abbildungsverzeichnis	xi
7	Einleitung	1
8	Carcinoma Mammae – Brustkrebs	2
8.1	Ätiologie	3
	Risikofaktoren für die Entstehung eines Mammakarzinoms	3
8.2	Kanzerogenese	4
	8.2.1 Initiation	4
	8.2.2 Promotion	5
	8.2.3 Progression	6
8.3	Bedeutsame Mutationen	6
8.4	Hormone	9
	8.4.1 Endogene Hormone	9
	8.4.2 Exogene Hormone	10
8.5	Einteilungen und Klassifikationen	11
	8.5.1 Klassifikation nach dem TNM- Stagingssystem	11
	8.5.2 Klassifikation des Mammakarzinoms nach dem histologischen Bild ...	15
8.6	Lokalisation	17
8.7	Metastasierung	18
8.8	Prognosefaktoren	18

9	Therapie des Mammakarzinoms	18
9.1	Neoadjuvante Chemotherapie	19
9.2	Operative Therapie	19
9.2.1	Brusterhaltende Therapie (BET) – mit Axilladisektion.....	20
9.2.2	Modifizierte radikale Mastektomie – mit Axilladisektion	20
9.2.3	Modifizierte radikale Mastektomie mit simultaner oder sekundärer Brustrekonstruktion – mit Axilladisektion	21
9.3	Lymphnodektomie	21
9.4	Adjuvante Therapie	22
9.4.1	Adjuvante (postoperative) Bestrahlung.....	22
9.4.2	Adjuvante systemische Therapie.....	22
9.4.3	Endokrine Therapie	25
9.5	Therapie des fortgeschrittenen/metastasierten Mammakarzinoms	26
9.6	Nachsorge beim Mammakarzinom	26
10	Genetische Veränderungen ´	27
10.1	Single Nukleotid Polymorphismus - SNP.....	27
10.1.1	Polymorphismus	28
10.1.2	Punktmutation.....	28
10.1.2.1	Substitution	28
10.1.2.2	Deletion	29
10.1.2.3	Insertion.....	29
10.1.3	Keimbahnmutationen und somatische Mutationen	29
11	Spezielle Single-Nukleotid-Polymorphismen	30
11.1	MTHFR.....	30
11.2	TGFB1	32
11.3	FAS und FASLG.....	33
11.4	PTGS2.....	35
11.5	SULT1A1	37

11.6	Interleukin 10.....	38
12	Material und Methoden.....	44
12.1	Auswahl der genetischen Polymorphismen.....	44
12.2	DNA Isolation.....	45
12.3	Genotypisierung	46
12.4	Statistische Analyse	46
13	Ergebnisse.....	48
14	Diskussion	51
15	Literaturangabe	53
16	Anhang.....	57

5 Abkürzungsverzeichnis

A	Adenin; eine Purinbase
AC	Therapieschema mit Doxorubicin und Cyclophosphamid
ADH	Atypische duktale Hyperplasie
APC	Antigen- präsentierende Zelle
BET	Brusterhaltende Therapie
BMP	Bone morphogenetic Proteins
BRCA1 u 2	Breast Cancer Gen 1 und 2
BRIP-1	Fanconi-Anämie-Gruppe-J-Protein
C	Cytosin; eine Pyrimidinbase
CDH1	E-Cadherin
CHK2	Checkpoint Kinase 2
CI	Konfidenzintervall
CMF	Therapieschema mit Cyclophosphamid, Methotrexat und Fluorouracil
COX 1 u 2	Cyclooxygenase 1 und 2
cSNP	Complementary Single Nucleotid Polymorphism
CT	Chemotherapie
cTNM	Klinische Tumor-Node-Metastasis Klassifikation
DCIS	Duktales Carcinoma In Situ
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EGF (R)	Epidermaler Growth Factor (Rezeptor)
ER	Estrogen Rezeptor
ET	Endokrine Therapie
FAS	=CD95= Fibroblast associated Receptor
FASLG	=CD95L= Fibroblast associated Receptor Ligand
FGFR2	Fibroblast Growth Factor Receptor 2
G	Glycin; eine Purinbase
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormon
GnRHA	Gonadotropin Releasing Hormon Agonist
IL-10	Interleukin 10 = CSFI = Colony Stimulating Factor Inhibitor

JAK/STAT	JAK = Janus-Kinase, STAT = Signal Transducers and Activators of Transcription
MAP	Mitogen Activated Protein
MCF-7-Zelle	Spezifikation einer menschlichen Brusttumorzelle
MHC-II	Major Histokompatibilitätskomplex- Typ II
MTHFR	5,10-Methylenetetrahydrofolate Reduktase
MYC	Myelocytomatosis viral oncogene Homolog
NADPH	=MTHFR= 5,10-Methylenetetrahydrofolate Reduktase
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NFkB	nuclear factor "kappa" beta; ein spezifischer Transkriptionsfaktor
OR	Odds Ratio
P	Wahrscheinlichkeit
P53	Tumorsuppressorgen P53
PAMP	Pathogen- assoziierte molekulare Muster
PCR	Polymerase Chain Reaction = Polymerase Kettenreaktion
PGHS	Prostaglandin G/H Synthase
PgR	Progesteron Rezeptor
PTGS2	Prostaglandin-Endoperoxide Synthase 2
pTNM	Pathochemische Tumor-Node-Metastasis Klassifikation
RR	Relatives Risiko (Risk Ratio of recurrence)
SNP	Single Nucleotid Polymorphismus =Einzelnukleotidpolymorphismus
SULT1A1	Sulfotransferase family 1A, member 1
T	Thymidin; eine Pyrimidinbase
TC	Docetaxel/Carboplatin Regime
TCH	Taxan/Carboplatin/Trastuzumab Regime
TGF	Transforming Growth Factor
TGFB1	Tumor Growth Factor Beta 1
TNM	Tumor-Node-Metastasis Klassifikation
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

6 Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	TNM-Klassifikation	Seite 11
Tabelle 2	Histologische Klassifikation der Mammakarzinome	Seite 16
Tabelle 3	Einteilung in Risikokategorien nach der St. Gallen Konsensuskonferenz	Seite 23
Tabelle 4	Chemotherapieschemata	Seite 24
Tabelle 5	Behandlungsstrategien für die adjuvante Therapie des Mammakarzinoms nach Risikogruppen	Seite 24
Tabelle 6	Behandlungsstrategien für hormonsensitive Tumore	Seite 25
Tabelle 7	Genetische Polymorphismen	Seite 45
Tabelle 8	Studienkollektiv	Seite 48
Tabelle 9	Univariates COX-Modell der analysierten Polymorphismen	Seite 50

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Mehrstufiger Kanzerogeneseprozess	Seite 6
Abb. 2	Entstehung des Mammakarzinoms	Seite 9
Abb. 3	Auswirkungen von IL-10 592C>A auf das kumulierte krankheitsfreie Überleben	Seite 51

7 Einleitung

Diese Arbeit untersucht den Zusammenhang von acht Keimbahnpolymorphismen mit dem krankheitsfreien Überleben von Patientinnen mit Brustkrebs und beschreibt die Ätiologie, Kanzerogenese, Einteilung und Stadienklassifikation, Therapiemodalitäten und Nachsorge. Als Grundlage und Hauptreferenzen dienten Fachbücher der Bereiche Pathologie[1], Gynäkologie[2] und der speziellen Onkologie[3].

8 Carcinoma Mammae – Brustkrebs

Brustkrebs ist weltweit die häufigste bösartige Tumorerkrankung in den industrialisierten Ländern und die häufigste Krebstodesursache bei Frauen. Nach Angaben der IARC (International Association on Research of Cancer) erkrankten weltweit 2002 etwa 1,15 Millionen Frauen an Brustkrebs [4]. Je früher die Erkrankung entdeckt wird, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit für eine Heilung.

Brustkrebs ist mit einem Anteil von 23% die häufigste Krebserkrankung bei Frauen. Innerhalb Europas variiert die Inzidenz deutlich zwischen 82,5-84,6 Erkrankungen/ 100000 Frauen in west- und nordeuropäischen und 46,6-62,4 Erkrankungen/ 100000 Frauen in ost- und südeuropäischen Ländern. Entgegen der globalen Entwicklung ist laut Robert-Koch-Institut 2005 die Inzidenz in den entwickelten Ländern seit Mitte der 1990er Jahre deutlich rückläufig. [3] Die absolute Zahl an Neuerkrankungen lag laut Statistik Austria 2006 in Österreich bei 4.897 Fällen, das Erkrankungsrisiko vor dem 75. Lebensjahr bei 7,4%. 2006 wurden in Österreich 56 männliche Brustkrebspatienten registriert. [5] Das Verhältnis der Erkrankung Männer zu Frauen beträgt ca. 1:100. [5]

Die Prognose dieser Erkrankung hängt wesentlich davon ab, wie früh sie erkannt wird. Die 5-Jahres Überlebensrate beim Mammakarzinom ist stadienabhängig. Sie beträgt im Stadium I 88%, im Stadium IV dagegen nur noch 14%. [6] Daher sind Screening- bzw. Vorsorgeuntersuchungen von entscheidender Bedeutung. Ziel dieser Untersuchungen ist es, eine Krebserkrankung in einem möglichst frühen Stadium zu entdecken. Zu einem Zeitpunkt also, zu dem die betroffene Frau noch keine Beschwerden verspürt. Die Mammographie ist die wichtigste international anerkannte und standardisierte Methode zur Brustkrebsfrüherkennung. So ist die Zahl der diagnostizierten in-situ Karzinome in den letzten Jahren erheblich angestiegen. Regelmäßige mammographische Untersuchungen unter Einhaltung besonderer Qualitätsstandards können die Sterblichkeit durch Brustkrebs zwischen dem 39. und 49. Lebensjahr um bis zu 45 Prozent senken. Für Frauen ab dem 50. Lebensjahr ist eine Verminderung der Sterblichkeit um bis zu 30 Prozent nachgewiesen. [7]

Im Vergleich mit Deutschland und der restlichen westlichen Welt gilt auch für Österreich, dass statistisch jede 8.-10. Frau in ihrem Leben an Brustkrebs erkrankt [2]. Diese Wahrscheinlichkeit steigt mit zunehmendem Lebensalter mit einem Häufigkeitsgipfel im 5. und 6. Lebensjahrzehnt. Das mittlere Erkrankungsalter beträgt 62 Jahre. Zunehmend sind auch jüngere Frauen betroffen, wobei Karzinome unter dem 25. Lebensjahr selten sind. [1] Bei jungen Frauen ist der Tumor jedoch im Schnitt größer, weiter fortgeschritten und zeigt eine schlechtere Prognose mit einem höheren Risiko sowohl für ein Rezidiv, als auch einer gesteigerten Sterberate verglichen mit älteren Patientinnen.

Das Mammakarzinom ist eine heterogene Tumorerkrankung. Die einzelnen Subtypen zeigen Unterschiede hinsichtlich Verlauf, Prognose und Ansprechen auf eine Therapie. Die Entwicklung verläuft biphasisch über intraepitheliale „in-situ“-Stadien, die nach vermutlich mehrjähriger Latenz in ein infiltrierendes Karzinom übergehen.

8.1 Ätiologie

Die Ätiologie des Mammakarzinoms ist weitgehend unbekannt. Endogene Faktoren scheinen ebenso wie exogene Faktoren zum Entstehen beizutragen.

Studien haben gezeigt, dass ca. 5% aller Brustkrebserkrankungen erblich bedingt sind. [8] Der größte Teil der Erkrankungsfälle tritt allerdings sporadisch auf.

Geographische Unterschiede in der globalen Inzidenz des Mammakarzinoms basieren möglicherweise auf genetischen Faktoren und unterschiedlichen Lebensgewohnheiten.

Risikofaktoren für die Entstehung eines Mammakarzinoms

- Alter der Patientin
- Geschlecht
- Westliche Lebensweise
- Fleisch- und fettreiche Ernährung
- Adipositas (besonders in der Postmenopause)
- Alkohol (über 20 g Ethanol pro Tag)
- Rauchen (v.a. prämenopausal)
- Genetische Prädisposition (BRCA1 oder BRCA2, P53 u.a.)
- Positive Familienanamnese: Vorkommen von Brustkrebs bei Verwandten 1. Grades (Mutter, Schwester, Tochter)

- Frühe Menarche und/oder späte Menopause: erhöhtes Risiko bei Menarche vor dem 12. Lebensjahr bzw. Monopause nach dem 55. Lebensjahr – somit langer Östrogenfluss = erhöhte „Östrogenlebenszeitdosis“
- Supraphysiologische Östrogenbehandlung in der Postmenopause
- Hormonelle Imbalancen: Gestörtes Östrogen-Gestagen-Verhältnis (Gestagenmangelhypothese), Hormonsubstitution
- Nulliparität
- Späte Erstgebärende: Erstes Kind nach dem 30. Lebensjahr der Mutter
- Mastopathie (Risikoerhöhung: ohne Atypien ca. 1,5fach: mit Atypien 2-10fach)
- Ionisierende Strahlen (Mammographien führen zu keiner nennenswerten Risikoerhöhung)
- Morphologische Veränderungen:
 - Duktale Hyperplasie, fibrozystische Mastopathie, sklerosierende Adenose oder radiäre Narbe
 - atypische lobuläre Hyperplasie
 - atypische duktale Hyperplasie
- Mammakarzinom der kontralateralen Seite
- Hyperprolaktinämie
- Ethnische Faktoren bzw. geographische Faktoren (das Verhältnis der Neuerkrankungen zwischen Europa und Japan beträgt 6:1; Die Inzidenzrate bei eingewanderten Japanerinnen ist jedoch deutlich erhöht, bei deren Töchtern sogar noch höher. Sie passt sich innerhalb weniger Generationen der Inzidenz des Aufenthaltsortes an.[3])
- Orale Kontrazeptiva: [9] Einnahmedauer über 5 Jahre
- Verkürzte Stillzeit [10]
- Sonnen- bzw. Vitamin D- Mangel [11]

8.2 Kanzerogenese

Die Tumorentwicklung (=Kanzerogenese) ist ein sehr komplexer Prozess, bei dem eine normale Zelle eines Organs in eine maligne Tumorzelle umgewandelt wird. Heute geht man von einem komplexen Mehrstufenmodell der Krebsentstehung aus. Die genaue Anzahl der Ereignisse, die zur Bildung eines malignen Tumors erforderlich sind, ist noch ungeklärt. Die Untergliederung in die Schritte **Initiation**, **Promotion** und **Progression** wird heute allgemein akzeptiert, da diese Schritte experimentell gut belegt sind.

8.2.1 Initiation

Bei der Initiation, dem ersten Schritt der Kanzerogenese, entstehen potentielle Tumorzellen, die sich phänotypisch nicht von den umliegenden normalen Zellen unterscheiden. Die Initiation beruht auf der irreversiblen Veränderung des

genetischen Materials durch eine von einem Karzinogen ausgelöste Mutation, falls diese nicht per DNA-Reparatur beseitigt wird oder die Zelle nicht durch Apoptose ausgeschaltet wird. Es wird angenommen, dass das mutierte Gen für die Kontrolle des Zellzyklus und/oder die Zellteilung zuständig ist, wie beispielsweise Tumorsuppressorgene. Höchste Empfindlichkeit der Brustdrüse gegenüber genotoxischen Kanzerogenen besteht während ihres aktiven Wachstums. Da zu diesem Zeitpunkt Brustdrüsenzellen vermehrt DNA replizieren, ist die Wahrscheinlichkeit einer Mutation nach Einwirkung eines genotoxischen Kanzerogens erhöht.

8.2.2 Promotion

Im zweiten Schritt, der Promotion, werden die initiierten Zellen in morphologisch erkennbare, präneoplastische Zellen überführt. Dazu müssen diese einen Wachstumsstimulus erfahren. Im Fall des Mammakarzinoms kann dieser Wachstumsreiz über Wachstumsfaktoren vermittelt werden, die durch Hormone, wie Östrogen, Progesteron oder auch Prolaktin, die Tumorzelle zur Proliferation anregen. Aus ihnen können sich dann in weiteren Schritten benigne und maligne Tumore entwickeln. Im Rahmen von Entzündungen können sich beispielsweise bei Mastopathie auch so genannte Wound-heal-Hormone an Oberflächenrezeptoren koppeln und damit, eigentlich zur Wundheilung gedacht, einen Wachstumsreiz auf die Zelle ausüben. Die sich proliferierende Zelle weist eine instabile DNA auf, wodurch das Risiko für weitere Mutationen in Tumorsuppressorgenen steigt und an die Tochterzellen weitergegeben wird. Auch hohe Kalorienaufnahme begünstigt die Tumorentstehung. Eine kalorische Restriktion bei unveränderter Nahrungszusammensetzung bewirkt hingegen eine Verminderung der Tumorinzidenz. Unter Konversion versteht man den Teil der Promotion, in dem es zu Akkumulation von Mutationen, Angiogenese und exzessiven Proliferationen kommt. Die Promotion ist in frühen Phasen reversibel. Man spricht von der Antipromotion.

8.2.3 Progression

Die präneoplastischen Zellen erfahren weitere Mutationen, wobei Tumorsuppressorgene und Onkogene eine Rolle spielen. Nun findet die eigentliche maligne Transformation statt. Die Zelle kann sich zunehmend entdifferenzieren, sich stetig ohne Unterbrechung teilen und wird immortal.

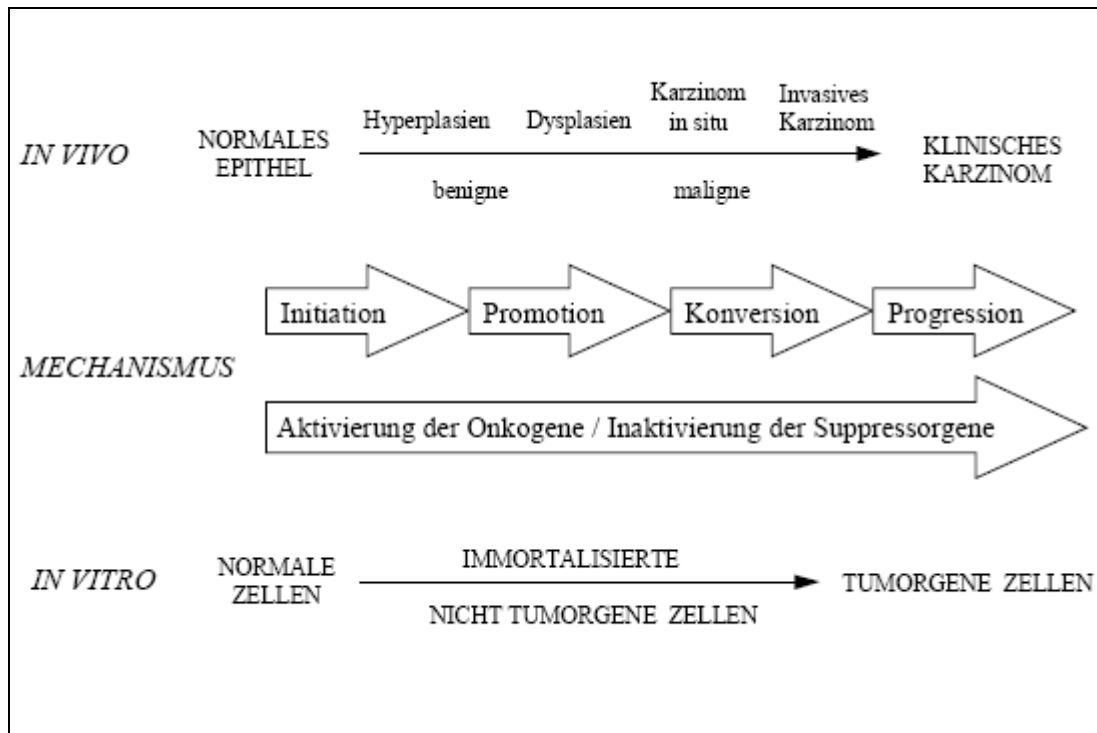


Abb. 1: Mehrstufiger Kanzerogeneseprozess (frei verändert nach Grafström et al. 1996)

8.3 Bedeutsame Mutationen

HER2/neu: HER2/neu gehört zur Familie der epidermalen Wachstumsfaktorrezeptoren. HER2/neu stimuliert die Zellproliferation und hemmt den programmierten Zelltod. In etwa 20-30% aller invasiven Mammakarzinome ist der Rezeptor überexprimiert. Das wirkt sich durch eine schlechtere Überlebensprognose aus. „HER2-positive“ Patientinnen können jedoch zwischenzeitlich von einer Therapie mit einem humanisierten monoklonalen Antikörper profitieren[3].

BRCA: Das auf Chromosom 17q21 lokalisierte Breast-Cancer-Gen 1 (BRCA1) ist für ca. 3% aller familiären Mammakarzinome verantwortlich und das auf 13q12-13

lokalisierte Breast-Cancer-Gen 2 (BRCA2) für knapp 2%. Beide Gene kodieren für Proteine, die bei der DNA-Reparatur mitwirken. Die Wahrscheinlichkeit, im Laufe des Lebens an Brustkrebs zu erkranken, wird für Trägerinnen mit 65%-80% für BRCA1 und 50%-70% für BRCA2 angegeben. Die meisten Frauen erkranken vor dem 50. Lebensjahr und haben zusätzlich ein deutlich erhöhtes Risiko auch an der kontralateralen Seite ein Mammakarzinom zu entwickeln. Das zusätzliche Risiko an einem Ovarialkarzinom zu erkranken, liegt bei 40% für Frauen mit BRCA-1 und bei 70% für Frauen mit BRCA2-Mutationen. Man geht davon aus, dass bei heterozygoten Mutationsträgerinnen die somatische Inaktivierung des zweiten Allels dieser Tumorsuppressorgene zu einem kompletten Funktionsausfall des entsprechenden Gens führt und die maligne Transformation nach sich zieht. [1, 2]

EGFR (= Abkürzung für engl. Epidermal-Growth-Factor-Receptor): Der EGF-Rezeptor ist ein Transmembranrezeptor. Die Aktivierung des Wachstumsfaktor-Rezeptors funktioniert über extrazelluläre Bindung von 2 Liganden, dem Epidermalen Wachstumsfaktor EGF und dem Transformierenden Wachstumsfaktor TGF-Alpha. Über Signaltransduktion wird im Zellinneren der programmierte Zelltod verhindert und Zellwachstum stimuliert.[3]

P53: Mutationen im P53-Gen, einem der Tumorsuppressorgene, werden autosomal rezessiv vererbt. Dieser „Hüter des Genoms“ wird durch Mutationen oder Deletionen inaktiviert. Das P53-Protein wirkt an der Zell-Zyklus-Kontrolle, an der DNA-Reparatur und an der Apoptoseinduktion mit. Sein Funktionsverlust stellt einen wichtigen und frühen Schritt der Tumorentwicklung dar. Bei einer Keimbahnmutation des für das p53-Protein kodierenden TP53-Gens entsteht das so genannte *Li-Fraumeni-Syndrom*, bei dem neben anderen Tumoren auch Brusttumoren in überdurchschnittlicher Häufung auftreten.[3]

CDH1 (E-Cadherin): Cadherine sind Calciumionen-abhängige transmembrane Glykoproteine aus der Gruppe der Adhäsionsproteine. Sie spielen eine Rolle bei der Stabilisierung von Zell-Zellkontakten, der embryonalen Morphogenese, der Erhaltung der Zellpolarität und der Signaltransduktion. Mechanismen der Inaktivierung sind Punktmutation, Deletion und Hypermethylierung. Der Verlust der Adhäsionsfähigkeit aufgrund der Inaktivierung des CDH1-Gens auf Chromosom 16q22 erklärt das

dissoziierte Wachstum mit den typisch einzelliegenden Tumorzellen beim lobulären Mammakarzinom.

Allelveränderungen mit geringer Penetranz

Die Häufigkeit und Risikoerhöhung von Allelveränderungen mit geringer Penetranz für die Brustkrebserkrankung ist nicht genau bekannt. Mäßig erhöht ist die Wahrscheinlichkeit bei Bestehen der seltenen genetischen Veränderungen mit mittlerer Penetranz, diese betreffen unter anderem die folgenden Gene: ATM (Ataxia teleangiectasia Gen), CHK2 (Checkpoint Kinase 2) und BRIP-1 (Fanconi-Anämie-Gruppe-J-Protein).[12]

ATM: Ataxia Teleangiectasia (AT) ist ein autosomal-rezessiv vererbtes Syndrom mit progressiver zerebellärer Ataxie und okulokutanen Teleangiektasien, sowie den charakteristischen Cafe-au-Lait-Flecken. Das auf Chromosom 11q23 lokalisierte ATM-Gen kann bei homozygoter Mutation neben vielen anderen auch Malignome der Mamma in hohem Maße fördern.[3]

Die wesentlich häufigeren Allelveränderungen mit geringer Penetranz erhöhen das Brustkrebsrisiko um das 1,25-fache bei heterozygoten Veränderungen und 1,65-fache bei homozygoten Veränderungen. Dazu gehören insbesondere Veränderungen von FGFR2 (fibroblast growth factor receptor 2). Es wird geschätzt, dass solche Mutationen mit geringer Penetranz bei 58 % der Brustkrebserkrankungen eine Rolle spielen.[13]

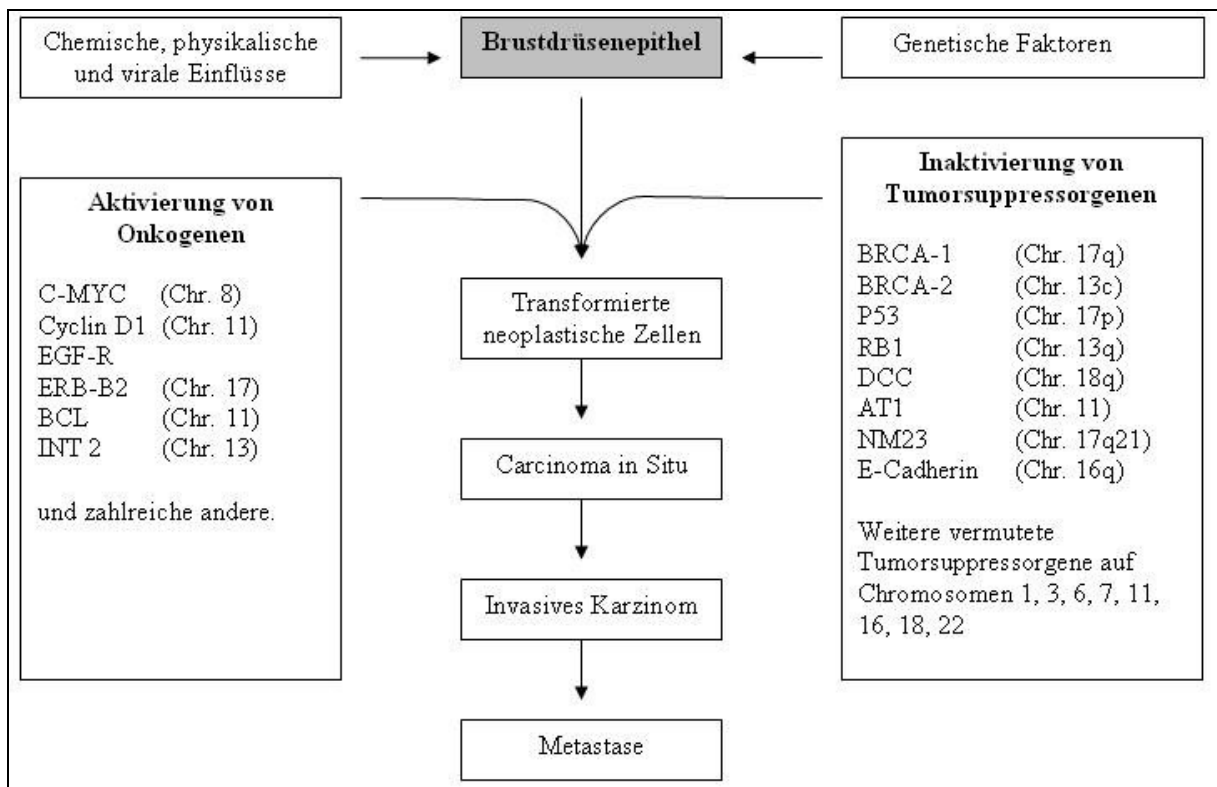


Abb. 2: Ein grobes Schema der Entstehung eines Mammakarzinoms

(frei verändert nach: Pathologie; Böcker, Denk et al.; [1])

(BCL = B-Zell-Lymphom; ERB = Erythroblastosis; MYC = Myelocystomatosis; NM = non-metastatic; RB = Retinoblastom; BRCA = Breast Cancer Gen; DCC = deleted in colon Carzinoma)

In der Abbildung 2 wird ein grobes Schema der für die Entstehung des Mammakarzinoms bekannten Onkogene und Tumorsuppressorgene gegeben.

8.4 Hormone

8.4.1 Endogene Hormone

Hormone beeinflussen das Risiko und die Prognose von Brustkrebs. Brustkrebs ist bei Männern weitaus seltener, was die Bedeutung von steroidal Sexualhormonen in den Mittelpunkt rückt. Frauen mit einer beidseitigen Oophorektomie in jungen Jahren weisen ein signifikant reduziertes Risiko für die Entstehung eines Brustdrüsenkarzinoms auf.

Die verantwortlichen Mechanismen sind jedoch noch nicht eindeutig geklärt, aber es gilt die allgemeine Hypothese, dass Östrogene Tumorpromotoren sind. Durch Bindung an ihre spezifischen Rezeptoren stimulieren Östrogene die Transkription von Proliferationsgenen.

Frühe Menarche und späte Menopause zeigen eine erhöhte bzw. verlängerte Exposition gegenüber endogenen Östrogenen an und wirken sich daher positiv auf das Entstehen von Brustkrebs aus. Zahlreiche prospektive Studien haben gezeigt, dass die Höhe der endogenen Östrogenspiegel mit dem späteren Brustkrebsrisiko korreliert.[14]

8.4.2 Exogene Hormone

Bereits in den 90er-Jahren wurden Studien durchgeführt, die eine Korrelation von oralen Kontrazeptiva mit gesteigerter Brustkrebsinzidenz zeigten. Eine neuere Analyse aus dem Jahr 2002 zeigt allerdings, dass orale Kontrazeptiva das Risiko später an einem Mammakarzinom zu erkranken, nicht erhöhen.[3]

Ein weiterer Grund für exogene Hormonzufuhr ist die Hormonersatztherapie zur Linderung von klimakterischen Beschwerden in den Wechseljahren. Hierbei wird dem Körper Östrogen, meist zusammen mit Gestagenen, zugeführt. In der sogenannten Million-Women-Studie veröffentlichte Daten aus den USA im Jahr 2003 [15] haben zu großen Kontroversen bezüglich dieser Therapie geführt, da eine Erhöhung der Krebsrate aufgezeigt wurde, jedoch nicht nur für Brustkrebs alleine, sondern für mehrere Gewebe, die unter Einfluss dieses Hormons stehen.

Gestagene werden in ihrem Verhältnis zu Brustkrebs kontrovers diskutiert.[14]

8.5 Einteilungen und Klassifikationen

8.5.1 Klassifikation nach dem TNM- Stagingssystem

Die Ausbreitung der Tumorerkrankung wird mit einer klinischen und einer pathohistologischen Tumor-Node-Metastasis-Klassifikation eingeteilt. Die TNM-Klassifikation der Union International contre le Cancer (UICC) ist das international am weitesten verbreitete Stadieneinteilungssystem.

"T" steht für einen klinisch beurteilten "Primärtumor"

"pT" für einen postoperativ histopathologisch beurteilten Primärtumor.

"N" bezeichnet klinisch beurteilte regionäre Lymphknoten

"pN" beschreibt postoperativ histopathologisch beurteilte regionäre Lymphknoten.

"M" bezeichnet Metastasen (Tochtergeschwülste)

Klinische TNM-Klassifikation (cTNM) nach Singletary [16]	
T0	Kein Tumor nachweisbar
Tis	Carcinoma in situ, nicht infiltrierendes Karzinom, Morbus Paget der Mamille ohne nachweisbaren Tumor
T1	Tumor
T1a	Ohne Fixation an die Pectoralisfaszie und/oder an den Muskel
T1b	Mit Fixation an die darunter liegende Pectoralisfaszie und/oder an den Muskel
T2	Tumor >2 cm bis
T2a	Ohne Fixation an die darunter liegende Pectoralisfaszie und/oder an den Muskel
T2b	Mit Fixation an die darunter liegende Pectoralisfaszie und/oder an den Muskel
T3	Tumor >5 cm
T3a	Ohne Fixation an die darunter liegende Pectoralisfaszie und/oder an den Muskel
T3b	Mit Fixation an die darunter liegende Pectoralisfaszie und/oder an den Muskel
T4	Tumor jeder Größe mit Infiltration in die Brustwand oder Haut
T4a	Fixierung an der Brustwand
T4b	Mit Infiltration oder Ulzeration der Haut (einschließlich Apfelsinenhaut) oder mit Satellitenknoten in der gleichen Brust

N - Regionäre Lymphknoten	
NX	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Metastasen in beweglichen ipsilateralen axillären Lymphknoten
N2	Metastasen in ipsilateralen axillären Lymphknoten, untereinander oder an andere Strukturen fixiert oder in klinisch apparenten Lymphknoten entlang der A. mammaria interna ohne gleichzeitiges Vorhandensein klinisch nachweisbarer axillärer Lymphknoten
N2a	Metastasen in ipsilateralen axillären Lymphknoten, untereinander oder an andere Strukturen fixiert
N2b	Metastasen lediglich in klinisch apparenten Lymphknoten entlang der A. mammaria interna ohne gleichzeitiges Vorhandensein klinisch nachweisbarer axillärer Lymphknoten
N3	Metastasen in ipsilateralen infraklavikulären Lymphknoten oder in klinisch apparenten Lymphknoten entlang der A. mammaria interna bei gleichzeitig klinisch nachweisbaren axillären Lymphknoten oder Metastasen in ipsilateralen supraklavikulären Lymphknoten mit oder ohne Beteiligung von axillären oder mammaria interna Lymphknoten
N3a	Metastasen in ipsilateralen infraklavikulären Lymphknoten und axillären Lymphknoten
N3b	Metastasen in Lymphknoten entlang der A. Mammaria interna und in axillären Lymphknoten
N3c	Metastasen in ipsilateralen supraklavikulären Lymphknoten
M – Fernmetastasen	
M0	Keine Fernmetastasen nachweisbar
M1	Fernmetastasen vorhanden

Postoperative histopathologische Klassifikation (pTNM) nach Singletary	
T- Primärtumor	
pTX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
pTis	Carcinoma in situ
pTis (DCIS)	Duktales Carcinoma in situ

pTis (LCIS)	Lobuläres Carcinoma in situ
pTis (Paget)	M. Paget der Mamille ohne nachweisbaren Tumor; ist der M. Paget kombiniert mit einem nachweisbaren Tumor, wird entsprechend der Größe des Tumors klassifiziert
pT1	Tumor
pT1mic	Mikroinvasion; Tumor < 0,1 cm
pT1a	Tumor > 0,1 cm, aber < 0,5 cm
pT1b	Tumor > 0,5 cm, aber < 1,0 cm
pT1c	Tumor > 1,0 cm, aber < 2,0 cm
pT2	Tumor > 2,0 cm, aber < 5,0 cm
pT3	Tumor >5 cm
pT4	Tumor jeder Größe mit direkter Ausdehnung auf Brustwand oder Haut, soweit unter T4a bis T4d beschrieben
pT4a	mit Ausdehnung auf Brustwand, nicht aber den M. pectoralis
pT4b	mit Ödem (einschließlich Apfelsinhaut) oder Ulzeration der Brusthaut oder Satellitenknötchen der Haut der gleichen Brust
pT4c	Kriterien 4a und 4b gemeinsam
pT4d	entzündliches (inflammatorisches) Karzinom
N - Regionäre Lymphknoten	
pN0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen, keine zusätzliche Untersuchung nach isolierten Tumorzellen
pNX	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden (zur Untersuchung nicht entnommen oder bereits früher entfernt)
pN0(i+)	Histologisch keine regionären Lymphknotenmetastasen, Immunhistochemie positiv
pN0(mol-)	Histologisch keine regionären Lymphknotenmetastasen, molekularbiologische Untersuchungen negativ
pN0(mol+)	Histologisch keine regionären Lymphknotenmetastasen, molekularbiologische Untersuchungen positiv
pN1a	Metastasen in 1 bis 3 axillären Lymphknoten
pN1mic	Mikrometastasen > 0,2 mm, aber < 2,0 mm
pN1b	Mikroskopischer Befall der durch Sentinel-Lymphknotenbiopsie entdeckten Lymphknoten entlang der A. mammaria interna, wobei die Lymphknoten nicht klinisch nachweisbar sind

pN1c	Metastasen in 1 bis 3 axillären Lymphknoten und mikroskopischer Befall der durch Sentinel-Lymphknotenbiopsie entdeckten klinisch inapparenten Lymphknoten entlang der A. mammaria interna
pN2	Metastasen in 4 bis 9 axillären Lymphknoten oder Metastasen in klinisch apparenten Lymphknoten entlang der A. mammaria interna ohne gleichzeitiges Vorhandensein klinisch nachweisbarer axillärer Lymphknoten
pN2a	Metastasen in 4 bis 9 axillären Lymphknoten (mindestens eine größer als 2,0 mm)
pN2b	Metastasen in klinisch nachweisbaren Lymphknoten entlang der A. mammaria interna ohne gleichzeitiges Vorhandensein klinisch nachweisbarer axillärer Lymphknoten
pN3	Metastasen in 10 oder mehr axillären Lymphknoten oder in infraklavikulären Lymphknoten oder in klinisch nachweisbaren ipsilateralen Lymphknoten entlang der A. mammaria interna bei gleichzeitig mindestens einem befallenen axillären Lymphknoten oder bei mehr als 3 befallenen axillären Lymphknoten und klinisch inapparenten Lymphknoten entlang der A. mammaria interna oder bei Metastasen in supraklavikulären Lymphknoten
pN3a	Metastasen in 10 oder mehr axillären Lymphknoten oder Metastasen in infraklavikulären Lymphknoten
pN3b	Metastasen in klinisch apparenten ipsilateralen Lymphknoten entlang der A. mammaria interna bei gleichzeitig mindestens einem befallenen axillären Lymphknoten oder bei mehr als 3 befallenen axillären Lymphknoten und mikroskopischem Befall der durch Sentinel-Lymphknotenbiopsie entdeckten klinisch inapparenten A.-mammaria-interna-Lymphknoten
pN3c	Metastasen in ipsilateralen supraklavikulären Lymphknoten
M – Fernmetastasen	
pM0	keine Fernmetastasen
pM1	Fernmetastasen entsprechend den M-Kategorien
G – Grading	
G1	hoch differenziert
G2	mittelgradig differenziert
G3	gering differenziert

L – Lymphgefäßinvasion	
L0	keine Lymphgefäßinvasion
L1	Lymphgefäßinvasion
V – Veneninvasion	
V0	keine Veneninvasion
V1	mikroskopische Veneninvasion
V2	makroskopische Veneninvasion
R – Residualtumor	
R0	kein Residualtumor
R1	mikroskopischer Residualtumor
R2	makroskopischer Residualtumor

Tabelle 1: Klinische und pathohistologische Klassifikation nach TNM [16]

8.5.2 Klassifikation des Mammakarzinoms nach dem histologischen Bild

Entsprechend dem Vorschlag der WHO werden Mammakarzinome nach ihren Invasionscharakteristika in zwei Gruppen unterteilt, nichtinvasive Karzinome (Carcinomata in situ) und invasive Karzinome (siehe Tabelle 2). Bei nicht-invasiven Karzinomen ist nach histologischer Definition die Basalmembran nicht durchbrochen.

Häufigster Tumortyp ist das invasiv-duktales Karzinom mit 65-80%. Liegt zusätzlich eine intraduktale Karzinomausbreitung vor, spricht man bei einem Verhältnis des intraduktalen zum invasiven Anteil von mindestens 4:1 von einem invasiven Karzinom mit prädominierender intraduktaler Komponente. Ist der intraduktale Karzinomanteil größer als 25%, so liegt ein invasives duktales Karzinom mit extensiver intraduktaler Komponente vor. Tubuläre, muzinöse und lobuläre Karzinome machen etwa 20-30% aller Mammakarzinome aus.

NICHT-INVASIVE KARZINOME (die Basalmembran wird nicht durchbrochen)	
DCIS (Duktales Carcinoma in Situ)	Karzinom, welches vom Epithel der Milchgange ausgeht
LCIS (Lobulres Carcinoma in Situ)	Karzinom, welches vom Epithel der Lobuli(=Läppchen) ausgeht
▪ INVASIVE KARZINOME (die Basalmembran wird durchbrochen)	
Invasives duktales Karzinom, not otherwise specified (NOS)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ gemischter Typ ▪ pleomorphes Karzinom ▪ Karzinom mit osteoklastenartigen Riesenzellen ▪ Karzinom mit chorionkarzinomartigen Merkmalen ▪ Karzinom mit melanotischen Merkmalen
Invasives lobuläres Karzinom	
Tubuläres Karzinom	
Invasives kribriiformes Karzinom	
Medulläres Karzinom	
Muzinoses Karzinom und andere Muzinreiche Tumoren	<ul style="list-style-type: none"> ▪ muzinoses Karzinom ▪ Zystadenokarzinom und zylindereelliges muzinoses Karzinom ▪ Siegelringzell-Karzinom
Neuroendokrine Tumoren	<ul style="list-style-type: none"> ▪ solides neuroendokrines Karzinom ▪ atypischer Carcinoidtumor ▪ kleinzelliges Karzinom ▪ groszelliges neuroendokrines Karzinom
Invasives papilläres Karzinom	
Invasives papilläres Karzinom	
Invasives mikropapilläres Karzinom	
Apokrines Karzinom	
Metaplastische Karzinome	<ul style="list-style-type: none"> ▪ rein epitheliale metaplastische Karzinome ▪ Plattenepithelkarzinom ▪ Adenokarzinom mit Spindelzell-Metaplasie ▪ adenosquamoses Karzinom ▪ mukoepidermoides Karzinom ▪ gemischtes epithelial-/mesenchymales metaplastisches Karzinom

Lipidreiches Karzinom	
Sekretorisches Karzinom	
Onkozytares Karzinom	
Adenoid-zystisches Karzinom	
Azinuszell-Karzinom	
Glykogenreiches Klarzellkarzinom	
Sebazeöses Karzinom	
Inflammatorisches Karzinom	

Tabelle 2: Histologische Klassifikation der Mammakarzinome 2003 [17]

Weitere Unterform:

Morbus Paget der Mamille

Ein Paget-Karzinom ist eine Spezialform des duktales Mammakarzinoms, das ausgehend von einem Gangkarzinom in die Epidermis der Mamille infiltriert.

8.6 Lokalisation

Die meisten Brusttumoren werden im oberen, äußeren Quadranten gefunden (49%). Im oberen inneren Quadranten werden ca. 16% und im Mamillenbereich etwa 17% lokalisiert, 12% im unteren äußeren und 6% im unteren inneren Quadranten. Die hauptsächliche Abstrombahn der Lymphe aus der Mamma zieht zu den regionären Lymphknoten der Axilla. Die Bedeutung dieser Lymphknoten wird in 9.3 beschrieben. Axilläre Lymphknoten werde ihrer Lage nach in drei Bereiche eingeteilt:

- Level 1: Lymphknoten lateral des lateralen Randes des M.pectoralis minor
- Level 2: Lymphknoten zwischen dem medialen und lateralen Rand des M. pectoralis minor sowie die interpektoralen Lymphknoten
- Level 3: Lymphknoten medial des medialen Randes des M.pectoralis minor

8.7 Metastasierung

Prädilektionsorte für Metastasierung sind vor allem Lunge, Leber und Skelett (zusammen 50-75%). Allerdings können beim Mammakarzinom Metastasen in fast allen Organen vorkommen. Häufig kommen Metastasen noch in Nebenniere, Haut, und Pleura vor (zusammen 25-49%). Auf andere Gewebe entfallen 5-20% aller Metastasen.[3]

8.8 Prognosefaktoren

Prognosefaktoren sollen helfen, den Krankheitsverlauf einzuschätzen.

Die aussagekräftigsten Prognosefaktoren sind:

- die primäre TumorgroÙe
- das AusmaÙ des axillären Lymphknotenbefalls
- das Grading
- der Hormonrezeptorstatus

Diese zählen zu den „klassischen“ Prognosefaktoren.

9 Therapie des Mammakarzinoms

Die Therapieoptionen umfassen die operative Intervention, Strahlentherapie und medikamentöse Tumortherapie. Operative Optionen sind brusterhaltende und ablativ Verfahren, gegebenenfalls in Kombination mit der Sentinel-Lymphknoten-Biopsie und primären oder sekundären plastisch rekonstruktiven Eingriffen. Fast immer besteht die Behandlung heute aus einer Kombination verschiedener Therapieformen. Werden zusätzliche Maßnahmen vor einer Operation durchgeführt, werden sie als neoadjuvant bezeichnet, werden sie nach einer Operation mit vollständiger Tumorentfernung eingesetzt, nennt man sie adjuvant. Die Einbindung der Patientin in die Entscheidungsfindung im Rahmen des Informed Consent ist wie bei jeder eingreifenden medizinischen Maßnahme von großer Bedeutung.

9.1 Neoadjuvante Chemotherapie

Diese Therapie hat das Ziel, den Tumor zu verkleinern, um eine vollständige Entfernung des Tumors zu ermöglichen. Sie kann durch eine zytostatische Therapie oder, in ausgewählten Fällen, durch eine Antihormontherapie erfolgen. Mehrere randomisierte Studien zeigten, dass die Prognose eines Mammakarzinoms durch eine neoadjuvante Chemotherapie in gleicher Weise verbessert werden kann wie durch eine adjuvante Therapie. Deshalb werden zunehmend auch kleine, gut resezierbare Primärtumore neoadjuvant behandelt. Standard ist die neoadjuvante Chemotherapie beim inflammatorischen Karzinom und bei zunächst lokalisierten inoperablen Tumoren.

Es hat sich gezeigt, dass das Ansprechen auf eine neoadjuvante Chemotherapie einen wichtigen Prognosefaktor darstellt.[18]

Mögliche Therapieschemata zur primären Systemtherapie umfassen:

- Sequenzielle anthrazyklin- und taxanhaltige Schemata:
 - 4 x AC (=Doxorubicin/Cyclophosphamid) gefolgt von 4 x Docetaxel
 - 4 x Anthrazyklin/Paclitaxel gefolgt von 3 x CMF (= Calcophosphamid/ Methotrexat/ Fluorouracil)
 - 3 x Epirubicin gefolgt von 3 x Paclitaxel
- Mindestens vier Zyklen einer anthrazyklinhaltigen Chemotherapie im Abstand von drei Wochen (4 x AC, 4 x FEC Schema) [19]

9.2 Operative Therapie

Mit der Operation der Brustkrebserkrankung werden zwei Ziele verfolgt: Einerseits soll durch vollständige Entfernung des Tumorgewebes eine Metastasierung verhindert werden, andererseits soll ein Rezidiv verhindert werden.

Prinzipiell stehen 3 operative Strategien zur Verfügung:

1. die Brusterhaltende Therapie (BET) – mit Axilladisektion
2. die modifizierte radikale Mastektomie – mit Axilladisektion
3. die modifizierte radikale Mastektomie mit simultaner oder sekundärer Brustrekonstruktion –mit Axilladisektion

9.2.1 Brusterhaltende Therapie (BET) – mit Axilladisektion

Grundsätzlich ist die brusterhaltende Therapie (BET) anzustreben. Derzeit lassen sich 60 bis 70 Prozent aller Mammakarzinome brusterhaltend operieren[20]. Kriterien dafür sind lokal begrenzte nichtinvasive Karzinome der Brust (DCIS, LCIS), unifokale, invasive Mammakarzinome mit intraduktaler Begleitkomponente, die mit eindeutig tumorfreiem Randsaum (R0) reseziert werden können und invasive Karzinome mit günstiger Relation von Tumorgröße zu Brustvolumen. Nach brusterhaltender Operation wird die Brust immer nachbestrahlt, sobald die Wundheilung abgeschlossen ist. Die Gesamtüberlebensraten bei pT1- und pT2-Tumoren (abhängig vom Lymphknotenbefall) sind für BET und Mastektomie vergleichbar. Allerdings ist bei verbliebenem Brustdrüsengewebe nach BET das Risiko für die Entstehung eines Lokalrezidivs auf das 3- bis 4-fache im Vergleich zur Mastektomie erhöht.[2]

9.2.2 Modifizierte radikale Mastektomie – mit Axilladisektion

Die modifizierte radikale Mastektomie gilt als Standardoperation, wenn die Voraussetzungen für einen Erhalt der Brust nicht gegeben sind. Sie hat die klassische (radikale) Mastektomie nach Halsted und Rotter abgelöst, um die dabei entstehenden Folgeschäden wie eingeschränkte Beweglichkeit von Schulter und Arm, Lymphödem von Arm und Hand, sowie eine sehr große Narbe zu verhindern. Bei der modifizierten radikalen Mastektomie werden die gesamten Brustdrüsen einschließlich der Pektoralisfaszie sowie der axillären Lymphknoten (pektoral, interpektoral, apikal und zentral; entspricht Level 1 und 2) reseziert.

Die Ablatio Simplex, also die Entfernung der Brustdrüse unter Belassung der Pektoralismuskeln und Verzicht der Entfernung der axillären Lymphknoten, ist nur unter folgenden Indikationen anzustreben:

- Nicht invasive duktale Karzinome: unter der Voraussetzung, dass die Brust nicht erhalten werden kann und kein Verdacht auf axilläre Lymphknotenmetastasen besteht
- Lokales Rezidiv nach brusterhaltender Operation mit axillärer Lymphonodektomie
- Bei fortgeschrittenem Karzinom und Fernmetastasen zur lokalen Tumorkontrolle
- Prophylaktische Mastektomie: auf Patientinnenwunsch bei Patientinnen mit hohem Risiko einer bilateralen Karzinomentstehung der kontralateralen Brust

9.2.3 Modifizierte radikale Mastektomie mit simultaner oder sekundärer Brustrekonstruktion – mit Axilladisektion

Nach einer modifizierten radikalen Mastektomie kann die Brust bei simultaner (primärer) Rekonstruktion in der gleichen Sitzung aufgebaut werden [3]. Die spätere (sekundäre) Rekonstruktion, bei der die Brust nach frühestens 6 Monaten wieder aufgebaut wird, hat hingegen den Vorteil, dass das Staging, sowie die adjuvante Therapie zu diesem Zeitpunkt abgeschlossen sind und somit das Ausmaß der Erkrankung bekannt ist.

9.3 Lymphnodektomie

Der Lymphknotenstatus ist einer der wichtigsten prognostischen Kriterien des Mammakarzinoms. Daher gehört die axilläre Lymphnodektomie bei der Mastektomie mit Bestimmung des histologischen Nodalstatus (pN-Status) und der BET obligat zum diagnostischen und therapeutischen Konzept.

Die offene Lymphnodektomie ist die Standardmethode, bei der mindestens 10 Lymphknoten aus Level 1 und 2 entfernt und histologisch untersucht werden sollten.

Besondere Bedeutung für die Operation kommt inzwischen aber dem „Wächterlymphknoten“ (=Sentinel-Lymphknoten) zu. Wächterlymphknoten sind diejenigen Lymphknoten, die im Abflussgebiet der Lymphflüssigkeit eines bösartigen Tumors an erster Stelle liegen. Deren Befund lässt weitere Aussagen über die Ausbreitung des Tumors zu. Ist der Wächterlymphknoten nicht befallen, was in histologischer Schnellschnitttechnik während der Operation befundet wird, so kann bei Brustkrebs mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % [21] davon ausgegangen werden, dass nachfolgende Lymphknoten ebenso wenig betroffen sind.

Die Wächterlymphknoten-Exzision ist bei folgenden Patientinnen indiziert[22]:

- klinischer Tumor < 2 cm
- fehlender klinischer axillärer Lymphknotenbefall
- fehlende inflammatorische Tumorausbreitung
- keine Voroperationen im Bereich der Axilla.

9.4 Adjuvante Therapie

Die adjuvante Systemtherapie wird aufgrund überragender Evidenz allgemein als integraler Primärtherapiebestandteil akzeptiert. Auf eine adjuvante Systemtherapie kann generell nur bei Patientinnen mit einem sogenannten „minimalen“ Rezidivrisiko verzichtet werden. Bei der adjuvanten Therapie wird zwischen **postoperativer Bestrahlung** (lokal) und **systemischer Therapie** unterschieden. Die adjuvante Therapie schließt sich der Resektion des Tumors an. Ihr Ziel ist es, vermutete disseminierte Tumorzellen zu eliminieren, die mit den uns zur Verfügung stehenden diagnostischen Methoden noch nicht erfasst werden können.

9.4.1 Adjuvante (postoperative) Bestrahlung

Die adjuvante Bestrahlung erfolgt mit Kobalt 60, da dieser die Brust homogen durchstrahlt. Die Gesamtdosis liegt bei 50Gy, unterteilt in Einzeldosen zu je 2 Gy.

Die adjuvante Bestrahlung nach brusterhaltender Therapie gilt als obligat. Sie senkt die Lokalrezidivrate von 30 % auf 5 % [2] und dadurch auch die Mortalität.

Die adjuvante Bestrahlung der Brustwand nach Mastektomie wird nur bei sehr großen Tumoren, insbesondere bei Hautinfiltration und/oder Lymphangiosis durchgeführt. Auch bei ausgeprägtem Lymphknotenbefall (4 oder mehr) ist eine adjuvante Radiotherapie indiziert. Bei Patientinnen mit 1-3 befallenen Lymphknoten sollte über eine Bestrahlung individuell nach weiteren Risikofaktoren entschieden werden, wobei neuere Studien bereits beweisen, dass auch solche Patientinnen von der Bestrahlung profitieren.[18]

9.4.2 Adjuvante systemische Therapie

Nach den Richtlinien der Konsensuskonferenz 2007 in St. Gallen werden drei Gruppen mit niedrigem, mittlerem und hohem Risiko definiert. Die Entscheidung der Therapie richtet sich laut der Konsensuskonferenz 2007 nach der Tumorgöße, dem Lymphknotenstatus (N0, N1 oder N2), nach dem Hormonrezeptorstatus, der Her2/neu-Expression, dem Menopausenstand, der Gefäßinvasion, dem Grading und dem Alter der Patientin.

Risiko	Faktoren
Niedriges Risiko (alle Kriterien müssen erfüllt sein)	pN0 pT1 G1 Alter der Patientin < 35 Jahre Östrogen- und/oder Progesteronrezeptor- positiv keine Hämangiosis carcinomatosa HER-2/neu negativ
Mittleres Risiko	pN0 Östrogen- und/oder Progesteron-Rezeptor-positiv Plus eine der folgenden Kriterien: - Tumor > 2cm oder: G2/G3 oder: Alter unter 35 Jahr - N+ (1 bis 3 Lymphknoten positiv) aber keine Hämangiosis carcinomatosa und HER2/neu negativ
Hohes Risiko	pN+ (mind. 4 Lymphknoten positiv) oder jede pN+ Konstellation bei Hämangiosis carcinomatosa und/oder HER2/neu positiv

Tabelle 3: Einteilung in Risikokategorien des Mammakarzinoms nach der St.Gallen Konsensus-Konferenz 2007

Als Sondergruppen wird *das inflammatorische Mammakarzinom* geführt. Dieses weist bei primär operativer Therapie nur eine mittlere Überlebenszeit von unter 18 Monaten auf. Durch eine neoadjuvante Chemotherapie mit anschließender Resektion und/oder Strahlentherapie kann die 5-Jahres-Überlebensrate auf 35 – 55% angehoben werden.

Standard in der adjuvanten systemischen Therapie ist heute eine anthrazyklinhaltige Polychemotherapie als Dreierkombination in der nodal-negativen Situation sowie der Einsatz einer Anthrazyklin-Taxan-haltigen Kombination oder Sequenz bei nodal-positiver Erkrankung. Bei Her2/neu-positiven Tumoren ist die einjährige Trastuzumab-Therapie Standard.

In der zytostatischen Therapie wurden bisher hauptsächlich AC/EC/FEC- bzw. CMF Schemata durchgeführt. (A = Adriamycin = Dexorubicin, C = Cyclophosphamid, E = Epirubicin, F = Fluorouracil, M = Methotrexat). Dexorubicin und Epirubicin gehören in die Gruppe der Anthracycline.

Schema	Medikamente
FEC	5-Fluorouracil/Epirubicin/Cyclophosphamid
FAC	5-Fluorouracil/Doxorubicin/Cyclophosphamid
TAC	Taxan/Doxorubicin/Cyclophosphamid
AC→TH	Doxorubicin/Cyclophosphamid → Taxan, Trastuzumab
AC →T →H	Doxorubicin/Cyclophosphamid →Taxan , Trastuzumab; wobei Trastuzumab teilweise simultan, teilweise auch sequenziell eingesetzt werden kann
TCH	Taxan/Carboplatin/Trastuzumab

Tabelle 4: Chemotherapieschemata; (frei verändert nach: Duale Reihe: Gynäkologie und Geburtshilfe; 3.Auflage; Manfred Stauber, Thomas Weyerstahl; [2])

Den neuen Empfehlungen zur Folge ist der HER2/neu- Status in den Vordergrund getreten. Dementsprechend ist der Einsatz von monoklonalen Antikörpern (Trastuzumab→ Herceptin) in die Therapie eingeflossen.

Risikogruppe	Endokrin ansprechbar	Endokrin fraglich ansprechbar	Endokrin nicht ansprechbar
Niedriges Risiko	ET	ET	Nicht vorhanden
Mittleres Risiko	ET alleine CT→ET (CT + ET)	CT→ET	CT
HER2/neu positiv	+Trastuzumab	+Trastuzumab	+Trastuzumab
Hohes Risiko	CT→ET	CT→ET	CT→ET
HER2/neu positiv	+Trastuzumab	+Trastuzumab	+Trastuzumab

Tabelle 5: Behandlungsempfehlungen für die Adjuvante Therapie des Mammakarzinoms (ET=Endokrine Therapie; CT=Chemotherapie) Nach der St. Gallen-Konsensus-Konferenz 2007 [2]

Bei der Kombination von Chemotherapie mit einer endokrinen Therapie sollte Letzteres nach dem Ende der Chemotherapie (CT/ET) starten.

9.4.3 Endokrine Therapie

Der Östrogenentzug ist die wichtigste Methode in der endokrinen Behandlung des Mammakarzinoms. Tumoren prämenopausaler Frauen sind zu 50-60%, Tumoren postmenopausaler Frauen zu 70-80% rezeptorpositiv. Hormonrezeptorpositive Karzinome weisen eine bessere Prognose auf. Die endokrine Therapie kann das Wachstum des Tumors beeinflussen. Östrogene werden bei der prämenopausalen Frau hauptsächlich im Ovar produziert. Sowohl die medikamentöse ovarielle Suppression durch GnRH-(=Gonadotropin Releasing Hormon) Agonisten als auch die operative ovarielle Ablation stellen daher Therapiemöglichkeiten dar.

Bei der postmenopausalen Frau werden Östrogene durch Aromatisierung von Androgenen in Geweben synthetisiert. Hier setzt die Therapie mit Aromatasehemmern an.

Risikogruppe	Prämenopausal	Postmenopausal
Nieder	Tam oder Nil oder GnRHA	Tam/AI oder AI oder Tam oder nichts
Mittel	Tam (+/- OS)(+/- CT) oder CT/TAM (+/- OS) oder Tam alleine oder OS	Tam/AI oder AI oder CT/Tam/AI oder CT/AI
Hoch	CT/Tam oder CT→Tam + OS oder CT→(AI+OS)	CT/Tam/AI oder CT/AI

Tabelle 6: Behandlungsempfehlungen für Hormonsensitive Tumoren (Übernommen von [23])

Tam=Tamoxifen, CT=Chemotherapie, AI = Aromataseinhibitoren,

GnRHA = Gonadotropin Releasinghormon Agonisten

9.5 Therapie des fortgeschrittenen/metastasierten Mammakarzinoms

Etwa 90% der Mammakarzinomrezidive treten innerhalb der ersten 5 Jahre nach der Diagnose des Primärtumors auf.

Man unterscheidet zwei Formen von Metastasierung: die *lokoregionäre* und die *generalisierte Form*. Das lokoregionäre Rezidiv ist ein Rezidiv an der Thoraxwand und/oder in der Achselhöhle und muss, soweit möglich, operativ entfernt und histologisch untersucht werden. Von der generalisierten Form spricht man bei Fernmetastasen, die sich vermehrt in Knochen, Lunge und Leber bilden. Bei der Behandlung steht die systemische Gabe von Medikamenten im Vordergrund. Hier bieten sich endokrine- und Chemotherapien an. Hinzukommende Faktoren sind patientenbezogene wie der Allgemeinzustand, die Komorbidität, die Dauer des krankheitsfreien Intervalls und die Anzahl und Art der Fernmetastasen. Die Verträglichkeit der Medikamente und die Lebensqualität der betroffenen Patientin nehmen bei palliativen Therapien einen besonderen Stellenwert ein.

9.6 Nachsorge beim Mammakarzinom

Aufgaben der Nachsorge beim Mammakarzinom betreffen die Früherkennung von Rezidiven. Neben dem persönlichen Gespräch sind die körperliche Untersuchung und die Mammographie die wichtigsten Bestandteile der Nachsorge.

10 Genetische Veränderungen

10.1 Single Nukleotid Polymorphismus - SNP

Das National Center for Biotechnology Information, NCBI, gegründet von der US-Regierung und inzwischen Besitzer einer der weltweit größten Datenbanken für Einzelnukleotidpolymorphismen, schreibt in ihrem Überblick über ihre Forschungsarbeit [24]:

Ein Hauptgesichtspunkt der genetischen Forschung ist die Untersuchung von Gensequenzveränderungen die mit vererbten Phänotypen assoziiert sind. Die häufigsten Veränderungen betreffen Einzelnukleotidpolymorphismen (SNP'en). Es herrscht großes Interesse am Nachweis und der Entdeckung von Einzelnukleotidpolymorphismen, da man sich von ihnen eine Erleichterung bei großflächigen genetischen Assoziationsstudien erwartet.

In der Gesamtheit des menschlichen Genoms, bestehend aus ca. drei Milliarden Basenpaaren, unterscheiden sich einzelne Individuen nur in ungefähr 0.1% ihrer Nukleotidsequenz. Am häufigsten unter diesen drei Millionen Nukleotidvariationen sind Einzelnukleotidpolymorphismen, so genannte SNP'en (Single Nucleotide Polymorphisms). Sie sind für ca. 90% aller Unterschiede der einzelnen Individuen der menschlichen Rasse verantwortlich. Als SNP sind solche Stellen im Genom definiert, an denen die seltenere Allelvariante bei mindestens 1% der Bevölkerung vorkommt. Diese einfachste Veränderung der DNA kann für die Evolution unseres Erbgutes, für die meisten familiären Merkmale, wie etwa gelocktes Haar, aber auch für Krankheiten wie zum Beispiel Diabetes, Adipositas, Bluthochdruck und Krebs verantwortlich sein. Außerdem konnten unterschiedliche Arzneimittelverträglichkeiten und Wirkungen bei Patienten direkt mit bestimmten SNP'en in Verbindung gebracht werden. Dementsprechend befassen sich viele Forschungsprogramme mit dem Auffinden neuer SNP'en sowie der Aufklärung ihres Zusammenhangs mit verschiedenen Erkrankungen.[25] [26] [27]

Es wird angenommen, dass das komplette Genom etwa 10 Millionen SNPen beinhaltet, von denen durch das International HapMap Consortium 2003 und Frazer et al. 2007 3,1 Millionen nachgewiesen werden konnten. Die Dichte an bekannten Einzelnukleotid-Polymorphismen beträgt im Durchschnitt ein SNP pro 875 Basenpaare, jedoch sind diese nicht gleichmäßig im Genom verteilt. Die Häufigkeit von SNPen ist in genomischen Regionen, die sich zwischen Spieces mit codierenden Abschnitten befinden, geringer, als in nicht-codierenden Regionen.[28]

SNPen werden nach ihrer Lage in 3 Klassen eingeteilt: SNPen in codierenden Regionen, inter- und perigenetische SNPen. SNPen in codierenden Regionen eines Gens können die Funktion oder die Struktur des daraus resultierenden Proteins durch den Tausch der Aminosäuresequenz verändern.

Des Weiteren sind SNPen in der Pharmakogenetik relevant, zum Beispiel beim Ausmaß von Medikamentenreaktionen bzw. der Wirkung bei der Krebsbehandlung.[29]

10.1.1 Polymorphismus

Als Einzelnukleotidpolymorphismus wird die Variation eines einzelnen Basenpaares (Punktmutation) in der Nukleotidsequenz der DNA einer Population gesehen.[30]

10.1.2 Punktmutation

Als Punktmutation wird eine Genmutation bezeichnet, wenn durch die Veränderung nur eine einzelne Nukleinbase betroffen ist. Punktmutationen entstehen durch Substitution, Deletion oder Insertion, wobei nur bei der Substitution das Leseraster erhalten bleibt und es zu keinem sogenannten „Frameshift“ kommt.

10.1.2.1 Substitution

Bei der Substitution unterscheidet man die Transition, bei der ein Austausch einer Purin- gegen eine Purinbase bzw. einer Pyrimidin- gegen eine Pyrimidinbase besteht, und der Transversion, also der Substitution einer Purin- gegen eine Pyrimidinbase oder umgekehrt. Im Gegensatz zu nicht-codierenden Sequenzen, in welchen eine Punktmutation keine Auswirkungen hat, können Punktmutationen in

codierenden Sequenzen zu Veränderungen durch den Einbau einer abweichenden Aminosäure bewirken. So unterteilt man bei codierenden Sequenzen in:

- „*nonsense*“-Mutation (sinnentstellende Mutation): codiert für einen Stopp der Translation
- „*missense*“- nicht-synonyme Mutation (sinnverändernde Mutation): codiert für eine andere Aminosäure
- „*readthrough*“-Mutation: codiert ein Stoppcodon als Aminosäure
- „*silent*“- oder synonyme Mutation: codiert für die gleiche Aminosäure (Den 20 Aminosäuren stehen 61 codierende Basentriplets zur Verfügung)

10.1.2.2 Deletion

Eine Deletion bezeichnet den Verlust von genetischem Material. Dies kann angefangen vom kleinsten Baustein, also einer einzelnen Base, bis hin zum Verlust des gesamten Chromosoms, jeden Abschnitt treffen. Bei der Deletion kommt es meist zu einer Verschiebung des Leserasters, es sei denn der Verlust betrifft ein Vielfaches eines Basentriplets. In diesem Fall kommt es zum Ausfall einzelner Aminosäuren. Es kann weiters zwischen einer interstitiellen und einer terminalen Deletion unterschieden werden. Die terminale Deletion beschreibt einen Verlust im Endbereich, meist im Telomerabschnitt.

10.1.2.3 Insertion

Die Insertion, auch Addition genannt, bezeichnet den Zugewinn von genetischem Material. Bei der Punktmutation spricht man von Insertion, wenn nur eine Base hinzukommt. Dies verursacht jedoch eine Verschiebung des Leserasters.

Wenn die Insertion aus einem Vielfachen eines Basentriplett-Codons besteht, Kann es jedoch bei einer Aufrechterhaltung des Leserasters bleiben.

10.1.3 Keimbahnmutationen und somatische Mutationen

Je nach der Vererblichkeit spricht man von Keimbahnmutationen und somatischen Mutationen. Während Keimbahnmutationen bereits in Spermien- bzw. Eizellen vorhanden sind und somit an jede Zelle des Körpers weitervererbt und an die Nachkommen weitergegeben werden, betreffen somatisch Mutationen nur ein bestimmtes Gewebe eines Organismus und werden nicht weitervererbt.

11 Spezielle Single-Nukleotid-Polymorphismen

11.1 MTHFR

5,10-Methylenetetrahydrofolate Reductase (NADPH)

Cytogenetische Lage: 1p36.3

Die Methylenetetrahydrofolate Reduktase (MTHFR) ist ein Enzym, das im Zytoplasma von Zellen vorkommt. MTHFR metabolisiert Homocystein und hält dessen Spiegel im Aminosäure-Stoffwechsel im physiologischen Rahmen. 5,10-Methylenetetrahydrofolat Reduktase katalysiert die NAD(P)H-abhängige Reduktion von 5,10-Methylen-THF zu 5-Methyl-THF. 5-Methyl-THF ist der Methylgruppenspender bei der Remethylierung von Homocystein zu Methionin. Bei dieser durch die Methionin-Synthase medierten Reaktion ist 5-MTHF das Substrat und Methylcobalamin (Vitamin-B12) der Cofaktor des Enzyms. Somit reguliert die MTHFR- Aktivität indirekt auch die Verfügbarkeit von Kohlenstoffeinheiten für die DNA-Synthese und die Methylierungskapazität.[31]

Homocystein ist ein Nebenprodukt des Aminosäure-Stoffwechsels und gilt als wesentlicher Risikofaktor für atherosklerotische Gefäßveränderung und Thromboembolien, sowie Schwangerschaftskomplikationen.

Weiterhin haben epidemiologische Studien einen Zusammenhang zwischen kindlichen Neuralrohrdefekten und erhöhten mütterlichen Homocysteinwerten zeigen können.[32]

Im Jahr 2007 wurde die Zahl der Polymorphismen im MTHFR- Gen mit 60 beziffert, 41 seltene Mutationen werden beschrieben.[33]

Ein weit verbreiteter Polymorphismus im MTHFR-Gen führt zu einer in vitro thermolabilen Variante des MTHFR-Enzyms. Die Sequenzvariante besitzt nur etwa 50% der Aktivität des Wildtyp-Enzyms. Individuen mit dieser thermolabilen Form haben infolgedessen höhere Plasmawerte für Homocystein. Verantwortlich für die thermolabile Variante ist ein Basenaustausch in der kodierenden Region des

MTHFR-Gens. An der Position 677 findet sich bei der veränderten Form ein Basenaustausch von C (Cytosin) nach T (Thymidin). Dieser Austausch resultiert in der Aminosäuresequenz des Proteins in einem Wechsel von Alanin zu Valin. Der Polymorphismus ist weitverbreitet. Etwa 40% der Bevölkerung sind homozygot für den Wildtyp (CC), 45% heterozygot (CT) und 15% tragen homozygot die Sequenzvariante (TT).[34] [35] [36].

Sowohl klinische also auch in-vitro-Evidenzen zeigen auf, dass MTHFR- SNPen einen pharmkogenetischen Einfluß in Bezug auf Wirkung und Toxizität von 5-Flourouracil- und Methotrexat-Therapien darstellen. Des Weiteren weisen Studien darauf hin, dass Inhibition von MTHFR eine mögliche Zielsetzung sein könnte, um die Chemosensitivität von Krebszellen bei 5-Flourouracil-Chemotherapie zu erhöhen. Nachdem MTHFR-Mutationen weit verbreitet sind und Methotrexat- und 5-Flourouraciltherapien häufig bei der Krebstherapie eingesetzt werden, sind die Folgen von MTHFR- SNPen klinisch wichtig.[37]

Es finden sich sowohl Studien, die aussagen, dass MTHFR- SNPen signifikant im Zusammenhang mit dem Risiko für die Entstehung von Brustkrebs stehen, als auch widersprüchliche Ergebnisse.[38]

Der Weg, über den Folat abgebaut wird, liefert also 2 Ansatzpunkte für die wichtigen Chemotherapeutika Methotrexat und 5-Fluorouracil. Methotrexat agiert als ein Inhibitor der Dihydrofolat- Reduktase, die in der Tetrahydrofolatsynthese eine Rolle spielt, und wird in der Therapie von Brustkrebs, Lymphomen und bei Leukämien eingesetzt. Methylen-Tetrahydrofolat ist Bestandteil der dreiteiligen inhibierenden Komplexverbindung, die von 5-Fluorouracil zur Unterdrückung der DNA- Synthese gebildet wird. Brustkrebspatientinnen mit dem 677T- Allel zeigen signifikant herabgesetzte Chemotherapieverträglichkeit bei Methotrexat- beinhaltender Therapie gegenüber Patientinnen, die einer 5-Fluorouracil-Therapie unterzogen wurden. MTHFR 677 (TT/CT)- und 1298 (AA)- Genotypen werden mit der Ausbildung einer sekundären Leukämie nach 5-Fluorouracil-beinhaltender Chemotherapie in Verbindung gebracht.[28]

11.2 TGFB1

Voller Name: Transforming Growth Factor, Beta 1

Cytogenetische Lage: 19q13.2; 19q13.1

Der Transforming Growth Faktor (TGF) ist ein Signalmolekül und gehört zu den Zytokinen. Sie spielen eine wichtige Rolle in der embryonalen Entwicklung und der Differenzierung von Zellen und Geweben. Sie werden in die TGF- α -, TGF- β -Superfamilie und die BMP-Familie unterteilt.

TGF- α ist ein säure- und hitzebeständiges Protein, das sich zu einem Drittel homolog zum epidermalen Wachstumsfaktor (Epidermal Growth Factor = EGF) verhält. Es wird in vielen veränderten Zellen, Tumoren, embryonalen und adulten Zellen produziert und kann auch im Urin von Krebspatienten nachgewiesen werden.

TGFB ist eine Substanzgruppe, die inzwischen 35 Stoffe enthält. Darunter finden sich Aktivatoren, Inhibitoren, morphogenetische Knochenproteine, Wachstums- und Differenzierungsfaktoren, sowie das Anti-Müller-Hormon. TGFB tritt auch als negativer autokriner Wachstumsfaktor in Erscheinung. Viele Zellen synthetisieren TGFB und fast alle haben auch den spezifischen Rezeptor für dieses Peptid an ihrer Oberfläche ausgebildet.

BMP steht für „Bone Morphogenetic Protein“ und bildet eigentlich eine Untergruppe der TGF- β -Familie. BMPs kontrollieren fundamentale Ereignisse in der frühen embryonalen Entwicklung und in der Organogenese.[39]

Es ist bekannt, dass TGFB positive und negative Effekte auf verschiedene Stadien der Tumorentstehung hat. Deshalb spielt der TGFB-Signalweg auch eine duale Rolle in der Entwicklung von Krebs – unterdrückend auf frühe Stadien im Tumorwachstum, aber fördernd bei fortgeschrittenem Stadium und Metastasierung.[40]

Erhöhte Expression von TGFB1 führt zu einer Steigerung des Tumorwachstums über vermehrte Angiogenese und Immunsuppression.[41]

In der Literatursuche sind einige TGFB1 Polymorphismen beschrieben, die mit einem erhöhten Risiko an Brustkrebs zu erkranken einhergehen. Zwei Varianten davon sind funktionsgemäß beschrieben. Einer dieser Polymorphismen ist 29T>C. Diese Variante führt zu erhöhten TGFB1 Werten auf Serumebene aufgrund einer erhöhten Sekretion.[42]

Der 29T>C Polymorphismus zeigt in drei Fall-Kontroll-Studien von Frauen aus verschiedenen Populationen bei einem durchschnittlichen Erkrankungsalter von 50 Jahren eine mäßige 20%-ige Steigerung des Risikos für Brustkrebs.[43]

Der gleiche Genotyp zeigt aber protektive Effekte bei Frauen, bei denen Brustkrebs erst ab einem mittleren Alter von 70 Jahren auftritt.[44]

Der zweite funktionsgemäß beschriebene Polymorphismus im Promotor des TGFB1 ist eine Transition von C zu T an Position 509. Er steht in starkem Verbindungsungleichgewicht mit dem T29C Polymorphismus und zeigt einen Anstieg der Brustkrebsrate von 25 %.[44]

11.3 FAS und FASLG

FAS

steht für: fibroblast associated Receptor

Zytogenetische Lage: 10q24.1

FASLG

Ligand vom FAS

FAS ist ein Oberflächenrezeptor der nach Aktivierung den apoptotischen Tod der Zelle auslöst. Es ist ein transmembranes Protein vom Typ 1 und verfügt über eine cystinreiche extrazelluläre Rezeptordomäne und eine cytoplasmatische Todesdomäne. Der Rezeptor ist Teil der Tumor Nekrose Faktor Rezeptoren Familie (TNFRF = tumor necrosis factor receptor family). Sein Ligand (FasL) ist ein transmembranes Protein vom Typ II und ein Mitglied der Tumor Nekrose Faktoren Familie (TNFSF = tumor necrosis factor superfamily).

FASLG induziert Apoptose in mit FAS gebundenen Zellen. FASLG ist ein Typ II Membranrezeptor mit lösbarer Form, der bei proteolytischen Prozessen in die extrazelluläre Flüssigkeit abgegeben werden kann.[45]

Biologische Funktionen des FAS/FASLG-Systems

In einem ausgereiften Organismus spielt Apoptose, induziert durch FAS, z.B. eine Rolle bei der Homöostase von Geweben. Alternde und beschädigte Zellen werden so eliminiert. Darüber hinaus spielt Apoptose auch im Immunsystem eine entscheidende Rolle. Autoreaktive Zellen müssen beseitigt werden, um eine Autoimmunität zu verhindern. Am Ende einer Immunantwort wird die Zahl der aktivierten Lymphozyten reduziert, um die Immunhomöostase zu erhalten.[46]

Zusätzlich sind apoptotische Prozesse auch an der Immunüberwachung zur Entfernung von Tumorzellen involviert.

Des Weiteren ist der FASLG auch für eine außergewöhnliche Rolle im Immunsystem einiger Gewebe wie Hirn, Ovar, Testis, Uterus (während der Schwangerschaft), Plazenta und Auge verantwortlich. Diese Gewebe sind von der normalen Immunantwort ausgenommen und werden daher als immunologisch privilegiert bezeichnet.[47]

Fehlregulationen im CD95-System tragen zur Entstehung von Krankheiten wie Autoimmunerkrankungen, Krebs oder AIDS bei. CD95 wird in vielen Geweben konstitutiv exprimiert. Die Expression des CD95-Liganden ist jedoch auf wenige Zellen beschränkt, wie z.B. aktivierte T-Zellen, Makrophagen und Zellen der immunprivilegierten Gewebe, und wird streng reguliert. Der CD95L ist nicht auf ruhenden T-Zellen exprimiert, er wird aber nach Stimulation des T-Zell-Rezeptor-/CD3-Komplexes durch Antigen stark hochreguliert.[48]

Genetische Untersuchungen zu den Polymorphismen FASLG 844C>T, FAS 1377 G>A und FAS 670A>G im Bezug auf Brustkrebs ließen bis jetzt wenige Rückschlüsse zu. Es gibt Ergebnisse, die eine moderate Risikoveränderungen dieser funktionellen Polymorphismen für das Risiko, an Brustkrebs zu erkranken, beschreiben.

So wurde in einer Studie aus Peking, die 840 Patientinnen einschloss, ein erhöhtes Risiko in Verbindung mit FAS -1377GA [odds ratio (OR), 1.29; 95% Konfidenzintercall (CI), 1.05-1.59] und FAS -1377AA (OR: 1.36; 95% CI: 1.01-1.82)-Genotypen verglichen mit dem FAS -1377GG beschrieben, und ein vermindertes Risiko in Verbindung mit FASL -844CT (OR: 0.76; 95% CI: 0.62-0.94) und -844TT

(OR: 0.66; 95% CI: 0.43-1.00) Genotyp verglichen mit dem FAS -844CC-Genotyp.[49]

11.4PTGS2

Prostaglandin-Endoperoxid Synthase 2

Auch bekannt als Cyclooxygenase COX-2, PGHS-2 (prostaglandin G/H synthase and cyclooxygenase)

Cytogenetische Lage: 1q25.2-q25.3

Prostaglandin-endoperoxid Synthase (PTGS), auch unter dem Namen Cyclooxygenase bekannt, ist ein Schlüsselenzym in der Biosynthese von Prostaglandin. PTGS wirkt auf 2 Arten, als Dioxygenase und Peroxidase. Es sind zwei Isoenzyme von PTGS beschrieben: Die konstitutive PTGS1 und die induzierbare PTGS2.

Cyclooxygenase-1 und Cyclooxygenase-2 gehören beide der übergeordneten großen Gruppe der pathogen- induzierbaren Oxygenasen an. Die zwei Isoenzyme unterscheiden sich in ihrem Genloкус, in der leicht unterschiedlichen Struktur, kommen in verschiedenen Zelltypen vor, werden auch unterschiedlich reguliert und zeigen unterschiedliche Substratspezifität, d.h. sie sind pharmakologisch unterschiedlich beeinflussbar. Sie haben ca. 65% der Aminosäuresequenzen gemeinsam. Im Gegensatz zur Cyclooxygenase-1 ist die COX-2 nicht konstitutiv exprimiert, sondern wird durch Wachstumsfaktoren, Tumorpromotoren und entzündliche Reize, durch Zytokine und Mitogene, induziert, produziert also Prostaglandine im Rahmen von Entzündungsreaktionen. Dabei hat die COX-2 eine überwiegend proinflammatorische Funktion. In der Spätphase der Entzündung wurde jedoch auch eine entzündungsbegrenzende Wirkung beschrieben.[50]

Induktoren der Transkription von COX-2 sind die Entzündungsfaktoren TNF-Alpha, Interleukin-1-Beta und Lipopolysaccharide, des Weiteren Wachstumsfaktoren, Onkogene, NFkappaB, der MAP-Kinase-Weg, sowie Methandamid, einem Endocannabinoid-Analogen.[51]

Prostaglandinsynthase-2 oxidiert Arachidonsäure in zwei Schritten zu Prostaglandin H₂. Prostaglandin H₂ regelt die Sekretion von Magensäften und reguliert Entzündungsreaktionen. Dieses kann als Ausgangsprodukt durch weiteren Umbau in die Hormone Prostaglandin I₂, Prostaglandin E₂, Prostaglandin F₂ und Thromboxan A₂ umgewandelt werden. Weitere physiologische Prozesse, an denen die Prostaglandinsynthasen beteiligt sind betreffen die Nierenfunktion, die Blutgerinnung, die embryonale Einpflanzungsphase, die Geburt, Schmerz, und Fieber.[51]

PTGS2 ist normalerweise nicht oder nur in kleinen Mengen vorhanden und wird sehr schnell durch seine Stimulanzen induziert. Die PTGS2-Expression korreliert sehr mit der zunehmenden Mikrovaskularisation von Tumoren. Neben der Stimulation von Angiogenese spielt es eine wichtige Rolle bei der Inhibition von Apoptose und fördert sowohl die Metastasierung, als auch die Invasion von Tumorzellen. PTGS2 wird in den meisten humanen epithelialen Krebsformen überexprimiert und wird in Verbindung mit verschiedenen Aspekten der Tumorprogression diskutiert. Epidemiologische Studien haben eine signifikante Reduktion der Inzidenz von Gastrointestinaltumoren durch COX-2-Hemmung mittels nichtsteroidalen Antirheumatika gezeigt.

PTGS2 spielt auch bei der Brustkrebsentstehung eine gewichtige Rolle. Es wurde gezeigt, dass 56 % der infiltrierenden Mammakarzinome und intraduktalen Karzinome signifikante Level von PTGS2 exprimieren, während normales Brustdrüsengewebe dies nicht tut.

Ristimaki et al. analysierte die Expression des COX-2-Proteins immunhistochemisch an Gewebefeldproben von invasivem Brustkrebs. Moderate bis starke Expression des COX-2-Proteins konnte in 37,4% der Tumore gefunden werden. Die COX-2-Expression stand dabei unvorteilhaft mit der krankheitsfreien Überlebenszeit in Verbindung.

Die erhobene COX-2-Expression korrelierte mit vermehrter Tumorgroße, niedrigerem Differenzierungsgrad, negativem Hormonrezeptorstatus, höherer Proliferationsrate, vermehrter p53-Expression und dem Vorliegen der epidermalen Wachstumsfaktorrezeptor-2-Onkogenamplifikation, mit axillärem Lymphknotenmetastasen und dem histologisch duktalem Typ.

Singh et al. konnten in ihrer Arbeit zeigen, dass COX-2-Produktion in Brustkrebszellen ein Faktor ist, der die Bildung von Knochenmetastasen fördert. Sie fanden auch heraus, dass die Level von COX-2 direkt mit den Level vom Wachstumsfaktor VEGF in Verbindung stehen.[52]

Der Singlenukleotidpolymorphismus PTGS2 8473T>C wird in dieser hier vorgestellten Studie aufgrund der vorangegangenen Ergebnissen der Studie von Langsenlehner et al. (2006) miteinbezogen, die zum Ergebnis kam, dass Patientinnen mit dem homozygoten PTGS2 8473-CC Genotyp mit einem erhöhten Brustkrebsrisiko einhergehen könnten.[53]

11.5SULT1A1

Sulfotransferase family 1A, member 1

Cytogenetische Lage: 16p12.1

Das SULT1A1-Gen beim Menschen kodiert für eine cytosolische, thermostabile Phenol- Sulfotransferase (P-PST, EC 2.8.2.1), die in der Leber durch Sulfonierung von phenolischen Substraten Biosynthese und Entgiftungsfunktionen ausübt.

Das Enzym Sulfotransferase katalysiert die Sulfatkonjugation von vielen Hormonen, Neurotransmittern, Medikamenten und anderen Fremdstoffen. Diese im Zytosol befindlichen Enzyme sind unterschiedlich bezüglich ihrer Verteilung im Gewebe und ihrer Substratspezifität. Die genetische Struktur (Anzahl und Länge von Exons) ist unter den Familienmitgliedern ähnlich. Dieses Gen kodiert für eines von zwei Phenol-Sulfotransferasen mit thermostabiler Enzymaktivität. Es wurden schon viele alternative Splicevarianten, die für die zwei Isoformen kodieren, identifiziert.

Als Phase II-Enzym im Abbau von Medikamenten ist das Enzym Sulfotransferase 1A1 Katalysator der Sulfatierungsreaktion von verschiedenen sulfatischen und östrogenen Substraten, zu denen auch die Transformation von 4-Hydroxy-Tamoxifen zählt.

Analysen von Genvarianten haben gezeigt, dass Brustkrebspatientinnen, die mit Tamoxifen behandelt wurden und homozygot für das Allel SULT1A1*2 waren, ein

dreimal höheres Mortalitätsrisiko tragen, wie Patientinnen mit dem Allel SUL1a1*1.[28]

Als Modell-Einzelnukleotidpolymorphismus bezeichnet ist SUL1A1*2 die am besten beforschte polymorphe Sulfotransferase. Sie ist auch besonders wichtig aufgrund ihrer deutlichen Substratspezifität, ihrer breiten Gewebeverbreitung und ihrer Rolle im Metabolismus und der Entgiftung von vielen Medikamenten und Xenobiotika, sowie bei der diätischen Bioaktivierung und der umweltbedingten Prokarzinogenese. Der Basenaustausch G638A im kodierenden Gen der SUL1A1 führt zu einem Aminosäureaustausch von *Arg213 zu *His213, also einem Austausch an der Stelle 213 von Arginin durch Histidin. Es ist in Studien bestätigt, dass die Enzymaktivität von Thrombozyten-Phenol-Sulfotransferase und ihre Thermostabilität dem SUL1A1-Genotyp zugeordnet sind, die bei ca. 37 % der (kaukasischen) Bevölkerung auftritt. Obwohl es noch nicht endgültig bewiesen ist, scheint es, dass die Thermostabilität vom SUL1A1-Alloenzym erheblich verringert ist, verglichen mit dem Wildtypenzym ist. Weiters zeigen aktuelle Studien, dass das 1A1*2- Alloenzym höhere Aktivität aufweisen könnte.[29]

Eine weitere Studie behandelt den TGFB1 - 509 C>T-Polymorphismus in Zusammenhang mit der Strahlentherapie. Hier wurde bei Bestehen der genetischen Veränderung eine erhöhte Radiosensitivität von normalem Brustgewebe und eine Erhöhung der darauffolgenden bestrahlungsinduzierten Komplikationen im Gewebe festgestellt.[54]

11.6 Interleukin 10

IL 10 (in älterer Literatur: Cytokine-synthesis inhibitory factor: CSIF)

Cytogenetische Lage: 1q31-q32

Das IL-10 Gen beinhaltet 5 Exons, spannt sich über 5,2 Kilobasen und ist auf Chromosom 1 an der Stelle 1q31–1q32 zu finden. Das Protein, das von diesem Gen kodiert wird, ist ein zu den Zytokinen gehörendes Interleukin.

Viele physiologische und pathologische Prozesse im Organismus kommen durch eine Interaktion verschiedener Zellen des Immunsystems zustande. Dies wird im

Wesentlichen durch unterschiedliche Mediatoren vermittelt, wobei Zytokinen eine besondere Bedeutung zukommt. Zytokine, als immunregulatorische Glykoproteine, besitzen eine pleiotrope Wirkung und können autokrin, parakrin oder systemisch wirken. Sie werden stimulusabhängig neu synthetisiert und modulieren die Immunantwort über Quantität, Rezeptoraffinität und Redundanz. Zu den Hauptaufgaben der Zytokine gehören die Koordination von Proliferations-, Wachstums- und Differenzierungsprozessen, von Apoptose und Angiogenese sowie die Regulation und Interaktion von adaptivem und angeborenem Immunsystem.[55]

Es gibt viele Studien, die belegen, dass es eine Verbindung von Zytokin-Genpolymorphismen und der Entwicklung von Krebs gibt.[56] In einigen Studien wird gezeigt, dass diese genetischen Polymorphismen die gesamte Expression und Sekretion der Zytokine betreffen.[57]

Interleukin 10 wird hauptsächlich von Monozyten und, in kleinerem Ausmaß, von Lymphozyten gebildet. Dieses Zytokin hat pleiotrope Effekte bei der Immunregulation und der Entzündungsreaktion. Es beschränkt die Expression von T-Helferzellen (TH) 1- Zytokinen, MHC Klasse II Antigenen und co-stimulierende Moleküle auf Makrophagen. Es hemmt die Bildung von Zytokinen der TH1-Antwort und wirkt verlängernd auf das Überleben. Weiters ist es für die Vermehrung und Antikörperproduktion von B-Lymphozyten verantwortlich, steigert die Proliferation und die Antikörperproduktion. Es blockt den nukleären Faktor NFκB und ist in die Regulation des JAK-STAT-Signalweges (spezieller Signalübertragungsmechanismus in einigen vielzelligen Organismen, der zur Regulation der Zellentwicklung, Wachstumskontrolle und Homöostase beiträgt) miteinbezogen. Interleukin-10 ist auch ein wesentlicher Immunmodulator des Intestinaltraktes.

Speziellere immunologische Funktionen von Interleukin 10

IL-10 wurde ursprünglich als CSFI entdeckt. Von TH2-Zellen produziert, unterbindet es TH1- Zell-Funktionen. Später wurde nachgewiesen, dass CSFI auch TH2-Antworten unterbinden kann.

In letzter Zeit wurde auch die Expression von IL-10 (und TGF- β) als Markenzeichen von verschiedenen Typen von regulatorischen T-Zellen beschrieben. Allerdings ist die Bedeutung der IL-10-Expression für die Toleranzkontrolle noch nicht genau abgeklärt. Der größte Teil der Unterdrückung der T-Zell-Aktivierung durch IL-10 scheint auf eine direkte Suppression der entscheidenden antigenpräsentierenden Zellfunktionen (APC-Zellen) zurückzuführen zu sein. Jedoch wurden direkte Effekte von IL-10 auf die TH1- und TH2-Zellaktivierung der Unterdrückung von IL-2-Produktion und der CD28-Signalwirkung zugeschrieben.

Interleukin 10 moduliert auch andere Immunfunktionen. Es induziert die Proliferation von Mastzellen und Thymocyten. Umgekehrt unterdrückt es aber auch die Produktion von Zytokinen bei unveränderter Mediatorausschüttung durch Mastzellen bei Immunglobulin E- Vernetzungen. Entsprechend der ursprünglichen Zuordnung als TH2- Zytokin wurde IL-10 die Fähigkeit zugewiesen, die Proliferation von B- Zellen mitanzuregen und die Differenzierung zu Plasmazellen voranzutreiben. Im Kontrast dazu scheint es jedoch in der Anwesenheit von Monozyten die IgE- Produktion zu hemmen. Bezüglich der Natürlichen Killerzellen wurden, jeweils abhängig vom zellulären Kontext, gegenteilige Effekte beschrieben. Interleukin 10 hemmt die Interferonbildung von natürlichen Killerzellen in Anwesenheit von Antigenpräsentierenden Zellen.

Myeloische Zellen sind ebenfalls eine Hauptquelle der IL-10- Produktion, sowie auch Monozyten, Makrophagen und dendritische Zellen. Pathogen- assoziierte molekulare Muster (PAMP) können Antigenpräsentierende Zellen so stimulieren, dass sie unterschiedlichste proinflammatorische Mediatoren ausschütten können. Diese Mediatoren, die essentiell für den Anstieg einer Immunantwort sind, beinhalten Zytokine, Chemokine, Prostaglandine und Stickstoffoxide. IL-10 unterbindet diese Ausschüttung zu einem großen Teil.

Die meisten Zytokine werden also von IL-10 inhibiert, inklusive der wichtigen First-Line Defensine und den TH1-induzierenden Zytokinen. Zusätzlich wird die Induktion der COX2- und der Stickstoffmonoxydbildung unterbunden.

Es mag mitunter so erscheinen, als ob IL-10 die Antigenpräsentierenden Zellen gänzlich deaktiviert, aber die Situation ist komplexer und tatsächlich fördert IL-10 gewisse, durch Pathogen-assoziierte molekulare Muster induzierte, Geschehnisse. Auf diese Weise wird die Induktion des IL-1-Rezeptorantagonisten von IL-10 synergistisch stimuliert. Weiters steigert IL-10 die Phagozytoseaktivität von Monozyten – ein Effekt, der eher der Entzündung zugeschrieben wird. IL-10 reduziert die Antigenpräsentation auch, indem es mit Peptiden gefüllte MHC-II (Major Histokompatibilitätskomplex- Typ II) -Moleküle in Endosomen verschließt. Außerdem reduziert es die co-stimulierenden Moleküle CD80/CD86.

Die erhöhte Aufnahme von Antigenen führt nicht zu einer Anregung der Immunantwort, sondern hilft eher beim Beseitigen der inflammatorischen Stimuli durch die Entzündung. IL-10 induziert die Differenzierung von Monozyten in eine Makrophagenart, die ohne die Ausschüttung von Entzündungsmediatoren die Entzündung durch die Beseitigung von bakteriellen und zellulären Ablagerungen zum Rückgang bringt. Dieser Effekt geht mit einer Hemmung der GM-CSF (von engl. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor)/Interleukin-4-gesteuerten Differenzierung von Monozyten zu dendritischen Zellen, sowie der PAMP-stimulierten Reifung der dendritischen Zellen einher. IL-10 inhibiert jedoch nicht bereits bestehende reife dendritische Zellen, denn diese exprimieren IL-10R nicht mehr.

Diesen groben Überblick zusammenfassend muss man sagen, dass IL-10 mehr als nur ein einfacher Hemmfaktor der Zytokinsynthese zu sein scheint, sondern eher ein pleiotropes Immunmodulatorzytokin ist, das aktivierende und deaktivierende Eigenschaften besitzt, zu sehen ist.[58]

Polymorphismen im IL-10 Gen

Heute sind (nach Howell und Rose-Zerilli; 2007) zumindest 49 IL-10 assoziierte Polymorphismen beschrieben. 28 Polymorphismen finden sich in der Promotorregion des Gens, 20 sind nichtcodierende oder synonyme Substitutionen und nur ein

Polymorphismus führt zu einer Änderung der Aminosäuresequenz. Die Polymorphismen kommen dabei über die gesamte Länge des IL-10-Gens vor.

Besonderes Augenmerk wurde in den Forschungen den Polymorphismen der Promotorregionen geschenkt, da man sich einen möglichen Einfluss auf die Gentranskription und die Proteinerzeugung versprach. Es wurde gezeigt, dass z. B. ein IL-10 -1082 SNP und -1082, -819 und -592 Haplotypen mit einer veränderten IL-10 Expression in vitro einhergehen, nämlich mit herabgesetzter IL-10 Expression durch -1082 A, -819 T, und -592 A Haplotypen im Vergleich zu den -1082 G, -819 C, und -592 C Haplotypen.

Auffällig dabei ist, dass in 17 der 23 von Howell und Rose-Zerilli 2007 untersuchten Studien positive Zusammenhänge zwischen dem Geno- oder Haplotyp von IL-10 und der Krankheitsprädisposition oder auch dem Fortschreiten der Krankheit angeführt werden. In einigen der verschiedenen Krebsarten waren Genotypen mit verminderter IL-10 Expression anscheinend ein Risikofaktor für die Tumorentwicklung und Progression, in anderen hingegen Geno- und Haplotypen mit hoher IL-10 Expression scheinbar Risikofaktoren darstellten.

Die Resultate sind folglich als gegensätzlich zu bewerten, besonders die Ergebnisse für Brustkrebs, Prostatakarzinome und dem Non-Hodgkin-Lymphom. Zum Thema Brustkrebs wurden 4 Studien mit IL-10 Polymorphismen zusammengefasst. Eine kleine Studie berichtet, dass der -1082 AA Genotyp mit verminderter Expression in Verbindung mit der Entstehung der Krankheit steht. Gegenätzlich wurde eine zweite größere Fall-Kontrollstudie mit 500 Patientinnen und 500 Kontrollprobandinnen publiziert, die den -592 AA Genotyp mit der Verminderung des Risikos an Brustkrebs zu erkranken beschreibt. In der gleichen Studie finden sich noch Verbindungen in Bezug auf IL-10 -592 Genotyp und Tumorgröße, histologischem Grading, Östrogen- und Progesteronrezeptorstatus oder auch Alter bei Diagnose. Der -592 SNP wurde als Beispiel für niedrige Expression so interpretiert, dass verminderte IL-10 Expression zwar protektiv bei der Entwicklung von Brustkrebs, nicht aber bei der weiteren Progression, wirkt.

Zwei unabhängige andere Studien konnten diese Ergebnisse nicht bestätigen, obwohl sie im größeren Umfang mit 2000 Brustkrebs- und 2000 Kontrollpatientinnen durchgeführt wurden.[59]

Aktuelle Studieninformationen zu Interleukin 10 und Brustkrebs:

In einer Brustkrebsstudie aus dem Jahr 2007 wurden Tumorzellen des Sentinel-Lymphknotens als Marker für das Metastasierungspotential des Tumors untersucht. Es wurde nachgewiesen, dass bei Brustkrebspatientinnen die T-Zell-Antwort in den Sentinel Lymphknoten von einer Interleukin 10 Überexprimierung herabgesetzt werden kann.[60]

Für andere SNPs von Interleukin 10, z.B. IL-10 1117G/A, -854C/T oder -627C/A, konnten teils gegensätzliche, positive und negative, Einflüsse auf die Entwicklung von Brustkrebs nachgewiesen werden, teils keine signifikanten Assoziationen gefunden werden.[61]

In einer anderen Studie zu Brustkrebs, die die Regulation von entzündungs- und angiogenesefördernden Genen bei Brustkrebszellen und Makrophagen prüfte, kam zum Vorschein, dass hier Aspirin die IL-10 Expression in den Makrophagen, MCF-7-Zellen (menschliche Brusttumorzellen) und mit Tamoxifen behandelten MCF-7-Zellen induzierte.[62]

2002 stellten Lucia Giordani et al. in ihrer Studie einen Zusammenhang zwischen IL-10 592AA und einer verminderten Wahrscheinlichkeit für ein Auftreten von Brustkrebs her, dem eine verminderte Produktion von IL-10 zugeordnet ist.[63]

Kozłowski et al. kamen bei Untersuchungen der Serumkonzentrationen von IL-10 bei Brustkrebspatientinnen zu dem Schluss, dass dieser Wert bei erkrankten Patientinnen höher ist, verglichen mit gesunden Probandinnen und mit dem klinischen Status der Krebserkrankung korreliert.[64]

12 Material und Methoden

Zwischen Jänner und Juli 2002 wurden 432 Blutproben von Patientinnen mit histologisch bestätigtem Brustkrebs ohne Fernmetastasierung an der klinischen Abteilung für Onkologie der Universitätsklinik für Innere Medizin Graz gesammelt. Die Patientinnen wurden bis Jänner 2008 nachbeobachtet und hinsichtlich des Wiederauftretens von Brustkrebs, der Entstehung von Metastasen oder Tod aufgrund von Brustkrebs beobachtet. Ein kompletter klinischer Datensatz (Alter bei Diagnose, Tumorgröße, Lymphknotenstatus, Staging), biologische Tumorklassifizierung (Grading, Östrogen- oder Progesteronrezeptorstatus) Therapiedaten (Hormontherapie, Anthrazykline- oder Nicht-Anthrazyklinchemotherapie), komplette Resultate der Genotypisierung und Informationen zum Brustkrebsrezidiv waren letztlich für 383 Patientinnen verfügbar. Der Hauptgrund für inkomplette Datensätze waren fehlende klinische Daten. Die Follow-Up-Daten waren für alle Patientinnen verfügbar.

Die Studie wurde in Übereinstimmung mit dem Österreichischen Gentechnikgesetz durchgeführt und von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz freigegeben. Eine schriftliche Einverständniserklärung wurde von jeder teilnehmenden Patientin eingeholt.

12.1 Auswahl der genetischen Polymorphismen

Für diese Studie wurden Singlenukleotidpolymorphismen (SNP) ausgewählt, die vorher schon hinsichtlich ihrer Wahrscheinlichkeit mit Brustkrebsrisiko einherzugehen evaluiert wurden. Acht SNPen wurden analysiert, die in einer Vielzahl von Pathways beteiligt sind, wie dem Folatmetabolismus (MTHFR 677C>T), bei Entzündungsreaktionen ((IL-10 592C>A), Zellproliferation und Apoptose ((FAS 1377G>A, FAS 670A>G, FASL 844C>T, TGFB1 29T>C), Prostaglandinsynthese (PTGS2 8473T>C) und bei Entgiftungsfunktionen (SULT1A1 638G>A).

Stoffwechselweg	Genname	Genetische Symbolbezeichnung	Polymorphismus (NCBI SNP ID)
Folatmetabolismus	Methylen-tetrahydrofolat Reduktase	MTHFR	677C>T (rs1801133)
Zellproliferation und Apoptose	Transforming Growthfactor-Beta1	TGFB1	29T>C (rs1982073)
	Fas ligand	FASLG	844C>T
	Fas	FAS	1377G>A (rs2234767)
	Fas	FAS	670A>G (rs1800682)
Prostaglandin Synthese	Cyclooxygenase-2	PTGS2 (COX2)	8473T>C (rs5275)
Entgiftungsreaktionen	Sulfotransferase 1A1	SULT1A1	638G>A (rs9282861)
Entzündung	Interleukin-10	IL-10	592C>A (rs1800872)

Tabelle 7: Genetische Polymorphismen

12.2 DNA Isolation

DNA wurde mit Hilfe des GenElute™ Blood Genomic DNA Kit's von SIGMA isoliert. Das Kit beseitigt die Notwendigkeit von teurem Harz, Alkoholausfällung und gefährlichen organischen Komponenten wie Phenol und Chloroform. Die Isolierung wurde entsprechend dem Protokoll gemacht, das vom Hersteller geliefert wurde. Die komplette Blutprobe liegt lysiert in einer chaotropen, Salz beinhaltenden Lösung vor um die gründliche Denaturierung der Makromoleküle zu garantieren. Die Zugabe von Ethanol verursacht eine Bindung der DNA wenn das Lysat in einem Mikrozentrifugenröhrchen durch eine Silicamembran zentrifugiert wird. Eine Vorwaschlösung wird zum Abtrennen von Partikeln, die von abgelagerten (mehr als 24 Stunden alten) weißen Blutzellen stammt, beigegeben. Nach der Reinigung von dieser Verschmutzung wird die DNA in 200µl einer Tris-EDTA-Lösung eluiert. Das isolierte erwartete Ergebnis der genomischen DNA ist typischerweise etwa 4-10µg

schwer. Die DNA, die mit diesem Kit gereinigt wurde, hat ein A260/A280 Verhältnis zwischen 1,6 und 1,9 und ist nun fertig für nachfolgende Anwendungen wie die PCR und Sequenzierungsreaktionen. Die Lagerung der isolierten DNA findet bei minus 20°C statt.

12.3 Genotypisierung

Die Genotypen wurden mittels TaqMan bestimmt (Applied Biosystems, Vienna, Austria). Das Applied Biosystem's TaqMan OpenArray System ist eine mit hohem Datendurchfluss ausgestattete Anwendung zur Genotypisierung. Das System erlaubt eine deutliche Verminderung der benötigten Reagenzien und auch die parallele Analyse von verschiedenen Genotypen und Samples. Die Vervielfältigung wurde streng nach den Herstellerinstruktionen durchgeführt.

PCR (Polymerase-Kettenreaktion vom Englischen „*Polymerase Chain Reaction*“) und die Auswertung der Fluoreszenzdaten wurden wie bereits beschrieben durchgeführt.[65]

Bei jedem Reaktions-Setting wurde eine Negativkontrolle mit Wasser an Stelle der DNA durchgeführt, um Kontamination oder ähnliche Störfaktoren ausschließen zu können.

12.4 Statistische Analyse

Das Hauptziel der Studie betrifft das krankheitsfreie Überleben. Als Endpunkte galten Wiederauftreten von Brustkrebs, das Auftreten von Metastasen und der Tod aufgrund der Tumorerkrankung. Überlebenskurven wurden mit Hilfe der Kaplan-Meier-Methode errechnet und mit dem Log-Rank-Test geprüft. COX-Regressionsanalysen wurden univariat und multivariat für prognostische Marker verwendet. Die multivariate Analyse wurde mit bekannten Prognosefaktoren adjustiert: Alter der Patientinnen zum Zeitpunkt der Diagnose (<40, 40 bis 49, 50 bis 59, oder ≥60 Jahre), Tumorgöße (T 1, 2, 3, 4), Lymphknotenstatus (N 0, 1, 2), klinische Staging (TNM 1, 2, 3), histologische Grading (G 1, 2, 3), Östrogenrezeptor-Status (ER), Progesteronrezeptor-Status (PR) und die Behandlungsmethode (Hormon-, Anthrazyklin- oder Nicht- Anthrazyklinchemotherapie).

Unterschiede wurden als signifikant angesehen, wenn der P-Wert kleiner 0,05 war. Die statistischen Analysen wurde mit dem SPSS statistical software package (SPSS Inc., Sunnyvale, CA, USA) durchgeführt.

13 Ergebnisse

Die mittlere Studienbeobachtungszeit (Follow-Up-Zeit) betrug 78,5 Monate. Die Spanne reicht von 3,75 bis 120 Monate. Die Nachbeobachtung wurde nach 10 Jahren zensiert. In der Patientinnengruppe war das durchschnittliche Alter bei der Diagnose Brustkrebs 55,9 Jahre (Intervall: 23-83). Von den 432 Patientinnen waren 380 postmenopausal und 52 prämenopausal. Die Tumorgöße betrug bei 223 Patientinnen T1 (52,6%), bei 145 Patientinnen T2 (33,6%), in 15 (3,5%) Fällen war die Größe als T3 und in 32 (7,4%) Fällen als T4 diagnostiziert. Bei 17 (3,9%) Patientinnen war die Tumorgöße unbekannt.

Die Tumore von 20 (4,6%) Patientinnen wurden als gut differenziert, die Tumore von 188 (43,5%) Patientinnen als mittelgradig und die Tumore von 205 (47,5%) Patientinnen als schlecht differenziert beschrieben. Bei 19 (4,4%) Patientinnen war kein Differenzierungsgrad erhebbbar.

Von den 432 Patientinnen hatten 202 (46,8%) keine Lymphknotenbeteiligung – bei 216 Frauen wurden Lymphknotenbeteiligungen nachgewiesen (N1 bei 202 (46,8%), N2 bei 14 (3,2%) und unbekannt bei 14 (3,2%) Fällen).

Follow-up-Zeit (in Monaten)	78,5 (Durchschnitt)	3,8-120 (Minimum; Abbruch)
Krankheitsfreies Überleben (in Monaten)	83,2 (Durchschnitt)	3,5-120 (Minimum; Abbruch)
Alter (in Jahren)	55,9 (Durchschnitt)	28-83
Menopausenstatus		
Prämenopausal	52	12%
Postmenopausal	380	88%
Tumorgöße		
T1	223	51,6%
T2	145	33,6%
T3	15	3,5%
T4	32	7,4%
Unbekannt	17	3,9%
Lymphknotenbeteiligung		
N0	202	46,8%
N1	202	46,8%
N2	14	3,2%
Unbekannt	14	3,2%

Grading		
G1	20	4,6%
G2	188	43,5%
G3	205	47,5%
Unbekannt	19	4,4%
Staging		
I	129	29,9%
II	230	53,2%
III	56	13%
Nicht erhebbar	17	3,9%
Estrogenrezeptor		
Negativ	103	23,8%
Positiv	316	73,1%
Unbekannt	13	3%
Progesteronrezeptor		
Negativ	141	32,6%
Positiv	275	63,7%
Unbekannt	16	3,7%
Hormon Therapie		
Nein	189	43,8%
Ja	243	56,2%
Tamoxifen Therapie		
Nein	197	45,6%
Ja	235	54,4%
Anthracyclin Therapie		
Nein	340	78,8%
Ja	92	21,3%
Keine Anthracyclin Therapie		
Nein	360	83,3%
Ja	72	16,7%

Tabelle 8: Studienkollektiv

Unter Verwendung des TNM- Systems nach der American Joint Committee on Cancer-Klassifikation waren 129 (29,9%) der Patientinnen in Stadium I eingeordnet, 230 (53,2%) wurden als Stadium II und 56 (13%) als Stadium III klassifiziert, bei 17 (3,9%) Patientinnen war das Stadium nicht erhebbar.

8 Singlenukleotidpolymorphismen wurden bestimmt. Es wurde untersucht, ob die SNPen eine Assoziation zu krankheitsfreiem Überleben aufweisen. Es wurde keine

Assoziation für MTHFR 677C>T, TGFB1 29T>C, FASLG 844C>T, FAS 1377>A, FAS 670A>G, PTGS2 8473T>C und SULT1A1 638G>A mit krankheitsfreiem Überleben gefunden. Entgegen dem geht das A- Allel des IL- 10 592C>A Polymorphismus nach Kaplan-Meier-Analyse signifikant mit einer schlechteren krankheitsfreien Überlebensrate einher (P=0,017; Abb. 3). Auch in der univariaten Cox-Analyse ergibt sich eine Signifikanz (P = 0,018, Relatives Risiko [RR] = 1,45, 95% Konfidenzintervall [CI] = 1,06–1,98). In dieser Analyse haben wir die heterozygoten C/A- und die homozygoten A/A-Genotypen aufgrund der geringen Anzahl der A/A-Genotypen kombiniert.

Das Risiko, das mit IL-10 in Verbindung steht, wurde nach Adjustierung durch Alter bei Diagnose, Tumorgröße, Lymphknotenstatus, histologischem Grading, Estrogen- und Progesteronrezeptorstatus und auch durch die Behandlungsarten nicht beeinflusst (P=0,019, RR=1,48, 95% CI= 1,066 bis 2,044)

Zusätzlich wurde eine unabhängige Kohortenanalyse von IL- 10 für jede der Behandlungsgruppen (Anthrazyklintherapie, Nicht-Anthrazyklinchemotherapie und Hormontherapie) durchgeführt. Es wurden keine Hinweise auf einen Zusammenhang mit krankheitsfreiem Überleben in den einzelnen Gruppen gefunden.

Polymorphismus	n	P	RR (95% CI)
MTHFR 677C>T	426	0,14	1,18 (0,95-1,48)
TGFB1 29T>C	428	0,13	1,18 (0,95-1,47)
FASLG 844C>T	421	0,84	0,98 (0,77-1,24)
FAS 1377G>A	432	0,16	0,78 (0,56-1,10)
FAS 670A>G	431	0,55	1,07 (0,85-1,35)
PTGS2 8473T>C	432	0,99	0,99 (0,80-1,25)
SULT1A1 638G>A	431	0,56	1,08 (0,84-1,37)
IL-10 592 592C>A	432	0,018	1,45 (1,07-1,98)

Tabelle 9: Univariates Cox-Model der analysierten Polymorphismen

(n= Anzahl; P= Wahrscheinlichkeit; RR= Relatives Risiko)

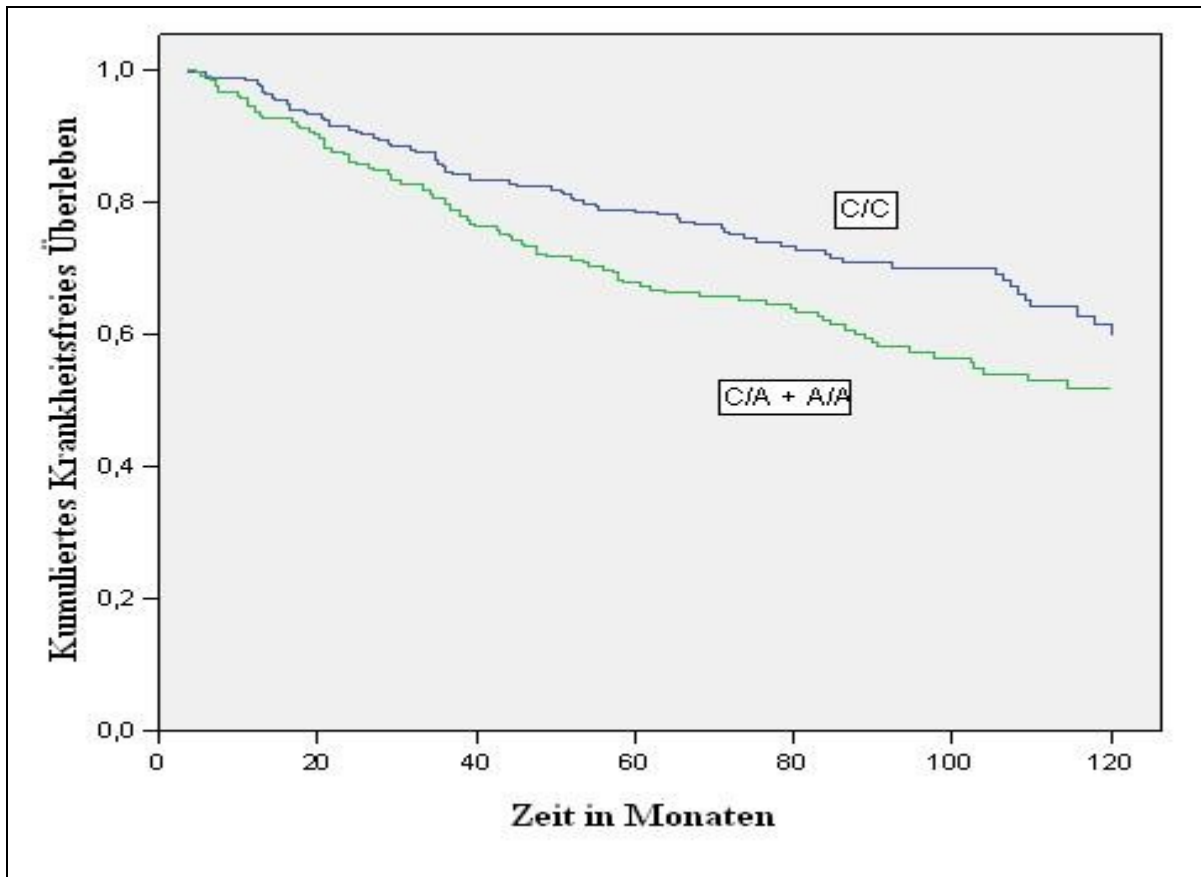


Abb. 3: Auswirkungen des IL-10 C592A Polymorphismus auf das kumulierte krankheitsfreie Überleben

14 Diskussion

In dieser Studie wird gezeigt, dass der IL-10 592C>A Polymorphismus eine bedeutende Rolle in der Prognose bei Brustkrebs spielen könnte. Der IL-10 592C>A Polymorphismus zeigte eine signifikante Assoziation mit dem krankheitsfreien Überleben der Patientinnen nach der Diagnose Brustkrebs (P-Wert= 0,018). Dieses Ergebnis bleibt auch nach Adjustierung mit bekannten Prognose-Faktoren signifikant (abgeglichener P-Wert= 0,019). Es wurde keine Evidenz für einen Zusammenhang der krankheitsfreien Überlebenszeit mit den Polymorphismen in den MTHFR, TGFB, FASL, FAS, PTGS2 und SULT1A1 Genen gefunden.

Als ein multifunktionales T-Helferzellen-Klasse-2-Zytokin zeigt IL-10 immunsuppressive Wirkung und anti-angiogenetische Wirkungen und spielt in der Entwicklung und Progression von verschiedenen Tumoren eine Rolle. In Zusammenhang mit Brustkrebs könnte IL-10 eine Rolle als zweiseitiges Schwert

zufallen. Auf der einen Seite könnte die immunsuppressive Wirkung von IL- 10 die Entwicklung von Brustkrebs über Tumorescapemechanismen begünstigen. Auf der anderen Seite sollten anti-angiogenetische Effekte des IL- 10 das Wachstum des Tumors und Metastasierung unterbinden bzw. zumindest reduzieren. Der [TCATA] Haplotyp von Polymorphismen an den Stellen -3575, -2763m -1082, -819 und -592 in der Promotorregion zeigt eine erhöhte IL- 10 Expression. Entsprechend des linkage disequilibrium kann das Vorhandensein dieses Haplotypes komplett mit der Analyse des -592C>A Polymorphismus bestimmt werden. Das - 592A –Allel steht für das Vorliegen des [TCATA]-Haplotyps, wohingegen das -592C –Allel seine Abwesenheit belegt. Obwohl die Regulierung der IL- 10 –Expression noch nicht komplett aufgeklärt ist, haben vorangegangene Studien gezeigt, dass der [TCATA] –Haplotyp zu hohen Werten von IL- 10 führt. In den letzten Jahren wurde auch beschrieben, dass die homozygote Ausbildung des IL- 10 [TCATA] –Haplotyps mit einer Verminderung des Risikos zur Ausbildung einer akuten Graft-versus-Host-Krankheit nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation zusammenhängt. Kombiniert man diese Ergebnisse mit den aufgezeigten biologischen Funktionen von Interleukin-10 in vitro und in vivo, deuten diese Daten auf hohe Werte von IL-10 bei [TCATA]–Haplotyp hin. Die Resultate hinsichtlich der Beurteilung einer Risikoerhöhung an Brustkrebs zu erkranken sind widersprüchlich.[66, 67] Die in dieser Studie gefundene Interaktion ist bisher nicht beschrieben und unbestätigt, aber biologisch möglich. Die genauen Mechanismen dafür müssen noch geklärt werden, jedoch hängen sie höchstwahrscheinlich mit dem Tumorescape- Mechanismus zusammen.

15 Literaturangabe

1. Werner Böcker, H.D.u.P.U.H., *Pathologie*. Vol. 3. 2008: München Elsevier, Urban& Fischer.
2. Stauber, M. and T. Weyerstahl, *Gynäkologie und Geburtshilfe*. 3 ed. Duale Reihe. 2007.
3. Hiddemann, W.H., H.; Bartram, C.R., *Die Onkologie in 2 Bänden*. 2010: Springer-Verlag GmbH.
4. Parkin, D.M., et al., *Global cancer statistics, 2002*. CA Cancer J Clin, 2005. **55**(2): p. 74-108.
5. Austria, B.S. *Krebserkrankungen; Brust*. 2006 [cited 20-02-2010]; Available from:
http://www.statistik.at/web_de/statistiken/gesundheit/krebserkrankungen/brust/index.html.
6. Stegmaier, C., et al., [*Descriptive epidemiology in population based cancer registries using CNS tumors as an example*]. Zentralbl Neurochir, 2001. **62**(4): p. 137-43.
7. Otto, S.J., et al., *Initiation of population-based mammography screening in Dutch municipalities and effect on breast-cancer mortality: a systematic review*. Lancet, 2003. **361**(9367): p. 1411-7.
8. Schmutzler R, M.A., *Das hereditäre Mammakarzinom: Genetik und Prävention*. In: *Aktuelle Empfehlungen zur Therapie primärer und fortgeschrittener Mammakarzinome*. 2007: C. Thomssen für die Kommission Mamma der Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie e. V.
9. Narod, S.A., *Modifiers of risk of hereditary breast cancer*. Oncogene, 2006. **25**(43): p. 5832-6.
10. *Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease*. Lancet, 2002. **360**(9328): p. 187-95.
11. *Sonnenmangel foerdert Krebs*. Medical Tribune, 2007. **42. Jg., Nr 23**: p. Seite 21.
12. Stratton, M.R. and N. Rahman, *The emerging landscape of breast cancer susceptibility*. Nat Genet, 2008. **40**(1): p. 17-22.
13. Hemminki, K., A. Forsti, and J. Lorenzo Bermejo, *Surveying germline genomic landscape of breast cancer*. Breast Cancer Res Treat, 2009. **113**(3): p. 601-3.
14. Kreienberg, R.A., Dieter; Jonat, Walter; Möbus, Volker and Volm, Tanja, *Management des Mammakarzinoms*, ed. S.M.V. Heidelberg. Vol. 3. vollst. überarbeitete u. erweiterte Auflage. 2006.
15. Beral, V., et al., *Ovarian cancer and hormone replacement therapy in the Million Women Study*. Lancet, 2007. **369**(9574): p. 1703-10.
16. Singletary, S.E., et al., *Revision of the American Joint Committee on Cancer staging system for breast cancer*. J Clin Oncol, 2002. **20**(17): p. 3628-36.
17. Muenchen, T., *Manual - Mammakarzinome*. Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge. 2007, Muenchen: W. Zuckschwerdt Verlag.
18. Kreienberg, R., *Interdisziplinäre S3-Leitlinie für die Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms*, ed. D. Krebsgesellschaft. Vol. 2. Auflage 2008. 2008: Zuckschwerdt.

19. Hanrahan, E.O., B.T. Hennessy, and V. Valero, *Neoadjuvant systemic therapy for breast cancer: an overview and review of recent clinical trials*. Expert Opin Pharmacother, 2005. **6**(9): p. 1477-91.
20. Janni, W.G., Bernd; Sommer, Harald; Untch, Michael; Krause, Annette; Dian, Darius; Runnebaum, Ingo; Rack, Brigitte; Friese, Klaus, *Zertifizierte medizinische Fortbildung: Therapie des primären, invasiven Mammakarzinoms*. Deutsches Ärzteblatt, 2005. **41**(102:A): p. 2795-2804.
21. Tanis, P.J., et al., *History of sentinel node and validation of the technique*. Breast Cancer Res, 2001. **3**(2): p. 109-12.
22. Kuehn, T., et al., *A concept for the clinical implementation of sentinel lymph node biopsy in patients with breast carcinoma with special regard to quality assurance*. Cancer, 2005. **103**(3): p. 451-61.
23. Pestalozzi, B., *Primary breast cancer: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up*. Ann Oncol, 2007. **18 Suppl 2**: p. ii5-8.
24. Information, N.-N.C.f.B., *SNP - Overview*. 2010.
25. Marx, M.S.A., *Genotypisierung - von genomischer DNA zum Genotyp in einem Schritt*. Angewandte Chemie, 2005. **117**(48): p. 8052 - 8060.
26. Consortium, S., *SNP Fact Sheet*. 2008.
27. Shastry, B.S., *SNPs: impact on gene function and phenotype*. Methods Mol Biol, 2009. **578**: p. 3-22.
28. Wiechec, E. and L.L. Hansen, *The effect of genetic variability on drug response in conventional breast cancer treatment*. Eur J Pharmacol, 2009. **625**(1-3): p. 122-30.
29. Schwonbeck, S., et al., *Cohort analysis of a single nucleotide polymorphism on DNA chips*. Biosens Bioelectron, 2004. **20**(5): p. 956-66.
30. Pschyrembel, W., *Pschyrembel Klinisches Wörterbuch 262. Auflage*, ed. d. Gruyter. 2009.
31. Goyette, P., et al., *Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA mapping and mutation identification*. Nat Genet, 1994. **7**(4): p. 551.
32. Blom, H.J., et al., *Neural tube defects and folate: case far from closed*. Nat Rev Neurosci, 2006. **7**(9): p. 724-31.
33. Leclerc, D. and R. Rozen, *[Molecular genetics of MTHFR: polymorphisms are not all benign]*. Med Sci (Paris), 2007. **23**(3): p. 297-302.
34. Bowen, D.J., et al., *Factor V Leiden (G1691A), the prothrombin 3'-untranslated region variant (G20210A) and thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase (C677T): a single genetic test genotypes all three loci--determination of frequencies in the S. Wales population of the UK*. Thromb Haemost, 1998. **79**(5): p. 949-54.
35. Kluijtmans, L.A., et al., *Molecular genetic analysis in mild hyperhomocysteinemia: a common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for cardiovascular disease*. Am J Hum Genet, 1996. **58**(1): p. 35-41.
36. Morita, H., et al., *Genetic polymorphism of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) as a risk factor for coronary artery disease*. Circulation, 1997. **95**(8): p. 2032-6.
37. Kim, Y.I., *Role of the MTHFR polymorphisms in cancer risk modification and treatment*. Future Oncol, 2009. **5**(4): p. 523-42.
38. Singh, V., D. Parmar, and M.P. Singh, *Do single nucleotide polymorphisms in xenobiotic metabolizing genes determine breast cancer susceptibility and treatment outcomes?* Cancer Invest, 2008. **26**(8): p. 769-83.
39. Miyazono, R.D.K., *The TGF-β Family*. 2008: John Inglis.

40. Derynck, R., R.J. Akhurst, and A. Balmain, *TGF-beta signaling in tumor suppression and cancer progression*. Nat Genet, 2001. **29**(2): p. 117-29.
41. Wakefield, L.M., Y.A. Yang, and O. Dukhanina, *Transforming growth factor-beta and breast cancer: Lessons learned from genetically altered mouse models*. Breast Cancer Res, 2000. **2**(2): p. 100-6.
42. Yokota, M., et al., *Association of a T29-->C polymorphism of the transforming growth factor-beta1 gene with genetic susceptibility to myocardial infarction in Japanese*. Circulation, 2000. **101**(24): p. 2783-7.
43. Dunning, A.M., et al., *A transforming growth factor-beta1 signal peptide variant increases secretion in vitro and is associated with increased incidence of invasive breast cancer*. Cancer Res, 2003. **63**(10): p. 2610-5.
44. Ziv, E., et al., *Association between the T29-->C polymorphism in the transforming growth factor beta1 gene and breast cancer among elderly white women: The Study of Osteoporotic Fractures*. JAMA, 2001. **285**(22): p. 2859-63.
45. Gruss, H.J., J. Duyster, and F. Herrmann, *Structural and biological features of the TNF receptor and TNF ligand superfamilies: interactive signals in the pathobiology of Hodgkin's disease*. Ann Oncol, 1996. **7 Suppl 4**: p. 19-26.
46. Li-Weber, M., et al., *The anti-inflammatory sesquiterpene lactone parthenolide suppresses CD95-mediated activation-induced-cell-death in T-cells*. Cell Death Differ, 2002. **9**(11): p. 1256-65.
47. Barker, C.F. and R.E. Billingham, *Immunologically privileged sites*. Adv Immunol, 1977. **25**: p. 1-54.
48. Krueger, A., et al., *The role of CD95 in the regulation of peripheral T-cell apoptosis*. Immunol Rev, 2003. **193**: p. 58-69.
49. Zhang, B., et al., *Functional polymorphisms in FAS and FASL contribute to increased apoptosis of tumor infiltration lymphocytes and risk of breast cancer*. Carcinogenesis, 2007. **28**(5): p. 1067-73.
50. Denkert, C., et al., *Elevated expression of cyclooxygenase-2 is a negative prognostic factor for disease free survival and overall survival in patients with breast carcinoma*. Cancer, 2003. **97**(12): p. 2978-87.
51. Simmons, D.L., R.M. Botting, and T. Hla, *Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition*. Pharmacol Rev, 2004. **56**(3): p. 387-437.
52. Eltarhouny, S.A., et al., *Genes controlling spread of breast cancer to lung "gang of 4"*. Exp Oncol, 2008. **30**(2): p. 91-5.
53. Langsenlehner, U., et al., *The cyclooxygenase-2 (PTGS2) 8473T>C polymorphism is associated with breast cancer risk*. Clin Cancer Res, 2006. **12**(4): p. 1392-4.
54. Andreassen, C.N., et al., *Prediction of normal tissue radiosensitivity from polymorphisms in candidate genes*. Radiother Oncol, 2003. **69**(2): p. 127-35.
55. Babel, N., et al., *Evidence for genetic susceptibility towards development of posttransplant lymphoproliferative disorder in solid organ recipients*. Transplantation, 2007. **84**(3): p. 387-91.
56. Havranek, E., et al., *An interleukin-10 promoter polymorphism may influence tumor development in renal cell carcinoma*. J Urol, 2005. **173**(3): p. 709-12.
57. Elias, J.A. and R.J. Zitnik, *Cytokine-cytokine interactions in the context of cytokine networking*. Am J Respir Cell Mol Biol, 1992. **7**(4): p. 365-7.
58. Grutz, G., *New insights into the molecular mechanism of interleukin-10-mediated immunosuppression*. J Leukoc Biol, 2005. **77**(1): p. 3-15.

59. Howell, W.M. and M.J. Rose-Zerilli, *Cytokine gene polymorphisms, cancer susceptibility, and prognosis*. J Nutr, 2007. **137**(1 Suppl): p. 194S-199S.
60. Woo, S.U., et al., *Overexpression of interleukin-10 in sentinel lymph node with breast cancer*. Ann Surg Oncol, 2007. **14**(11): p. 3268-73.
61. Scola, L., et al., *Cytokine gene polymorphisms and breast cancer susceptibility*. Ann N Y Acad Sci, 2006. **1089**: p. 104-9.
62. Burnett, G.T., et al., *Regulation of inflammation- and angiogenesis-related gene expression in breast cancer cells and co-cultured macrophages*. Anticancer Res, 2008. **28**(4B): p. 2093-9.
63. Giordani, L., et al., *Association of breast cancer and polymorphisms of interleukin-10 and tumor necrosis factor-alpha genes*. Clin Chem, 2003. **49**(10): p. 1664-7.
64. Kozlowski, L., et al., *Concentration of interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8) and interleukin-10 (IL-10) in blood serum of breast cancer patients*. Rocznik Akad Med Białymst, 2003. **48**: p. 82-4.
65. Gerger, A., et al., *A multigenic approach to predict breast cancer risk*. Breast Cancer Res Treat, 2007. **104**(2): p. 159-64.
66. Howell, W.M. and M.J. Rose-Zerilli, *Interleukin-10 polymorphisms, cancer susceptibility and prognosis*. Fam Cancer, 2006. **5**(2): p. 143-9.
67. Balasubramanian, S.P., et al., *Interleukin gene polymorphisms and breast cancer: a case control study and systematic literature review*. BMC Cancer, 2006. **6**: p. 188.

16 Anhang

Persönliche Angaben

Name: Hannes Kraker

Geburtsdatum: 13. Dezember 1982

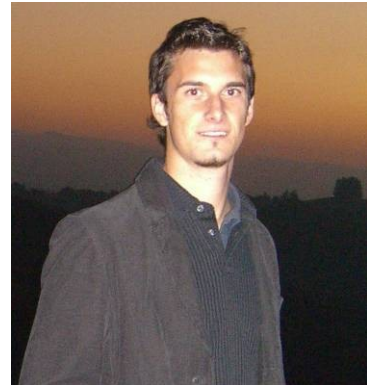
Geburtsort: Klagenfurt

Adresse: Gartenweg 2

9062 Moosburg

Tel.: +43 (0) 650 7007117

E-Mail: hanneskr@yahoo.de



Ausbildung

1988-1989: Vorschule Moosburg in Kärnten

1989-1993: Volksschule Moosburg in Kärnten

1993-1995: BRG Lerchenfeld mit sportlichem Schwerpunkt

1995-2001: BG Lerchenfeld mit sprachlichem Schwerpunkt

2001: Matura mit ausgezeichnetem Erfolg

2001-2002: Militärdienst in Villach

2002-2010: Studium der Humanmedizin an der Medizinischen Universität Graz (MUG), Österreich

Bisherige Famulaturerfahrung

- 4 Wochen auf der Abteilung für Kardiologie der Klinik Charité Berlin Mitte
- 4 Wochen auf der allgem. Inneren und Onkologischen Abteilung des Univ. Klinikum Graz
- 5 Wochen auf der Abteilung für allgemeine Pädiatrie der Univ. Klinik Graz
- 2 Wochen auf der Abteilung für Kinder- und Jugendpsychiatrie der Landeslinik Sigmund Freud Graz
- 6 Wochen auf der Abteilung für Innere Medizin des LKH Judenburg-Knittelfeld

Während des praktischen Jahres

- 10 Wochen auf der klinischen Abt. für Gefäßchirurgie am Univ. Klinikum Graz
- 10 Wochen auf der klinischen Abt. für Kardiologie am Univ. Klinikum Graz
- 6 Wochen auf der klinischen Abt. für Augenheilkunde am Univ. Klinikum Graz
- 6 Wochen in der Allgemeinärztlichen Praxis von Dr. med. Franz Xaver Wehle

Absolvierte spezielle Studienmodule (SSM) während des Studiums

- SSM Notfallmedizin
- SSM Kardiologie in der Praxis
- SSM Klinische Endokrinologie Interdisziplinär
- SSM Medizinische Molekularbiologie
- SSM Hypnose und erweiterte Kommunikation im ärztlichen Bereich