

Aus dem Fachbereich Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

aus dem
Dr. Senckenbergisches Institut für Pathologie
Direktor: Prof. Dr. Peter Wild

betreut am
Centrum für Hämatologie und Onkologie Bethanien

**Mutationsanalyse bei PatientInnen mit metastasiertem
Mammakarzinom**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Hanna Cho

aus Heidelberg

Frankfurt am Main, 2023

Dekan: Prof. Dr. Stefan Zeuzem

Referent: Prof. Dr. Hans Tesch

Korreferent/in: Prof. Dr. Peter Wild

Tag der mündlichen Prüfung: 08.02.2024

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	S.9
Summary.....	S.10
1.1 Epidemiologie und Risikofaktoren.....	S.11
1.2 Klassifikation.....	S.11
1.3 Diagnostik.....	S.12
1.4 Therapie.....	S.13
1.5 Relevante Biomarker beim Mammakarzinom.....	S.16
2. Ziele der Arbeit.....	S.19
3. Patienten und Methoden.....	S.20
3.1 Patientenkollektiv und Patientenauswahl.....	S.20
3.2 PCR-Analyse.....	S.22
3.3 NGS-Analyse.....	S.22
4. Ergebnisse.....	S.24
4.1 g <i>BRCA1/2</i> -Analyse.....	S.24
4.2 <i>PIK3CA</i> -Analyse.....	S.24
4.3 Mutationsanalyse mittels Multigenpanel.....	S.27
4.3.1 Übersicht Ergebnisse.....	S.27
4.3.2 Verteilung der Gene mit klinisch relevanten Mutationen.....	S.29
4.3.3 Verteilung der Gene mit möglicher Kopienzahlveränderung..	S.32
4.4 Therapeutischer Verlauf und Einsatz von Olaparib.....	S.34
5. Diskussion.....	S.34
5.1 Rationale dieser Arbeit.....	S.34
5.2 Mutationsanalyse in der onkologischen Praxis.....	S.35
5.3 Limitationen der Studie.....	S.36
5.4 MH Guide.....	S.36
5.5 Diskussion der Mutationsfrequenzen.....	S.37
5.6 Diskussion der Therapiemöglichkeiten.....	S.37
5.6.1 <i>BRCA</i>	S.37
5.6.2. <i>PIK3CA</i>	S.39
5.6.3 <i>NTRK</i> -Genfusionen.....	S.40
5.6.4 <i>TP53</i>	S.40

5.6.5 <i>AKT1, KRAS, AR</i>	S.39
5.6.6 Stellenwert der TMB beim Mammakarzinom.....	S.42
5.6.7 Stellenwert der MSI beim Mammakarzinom.....	S.42
6. Ausblick.....	S.43
7. Literaturverzeichnis.....	S.44
8. Lebenslauf.....	S.52
9. Schriftliche Erklärung.....	S.53

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
<i>AKT</i>	Gen der Proteinkinase B
<i>AKT1</i>	V-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1
<i>AR</i>	Androgen-Rezeptor
<i>ARID1A</i>	AT-rich interactive domain-containing protein 1A
<i>BRAF</i>	B-Isoform rapidly accelerated fibrosarcoma
<i>BRCA1</i>	Breast cancer susceptibility-Gen 1
<i>BRCA2</i>	Breast cancer susceptibility-Gen 2
bzw	Beziehungsweise
<i>CCND1-2</i>	Cyclin-D1, Cyclin-D2
CDK	Cyclin-dependent-Kinase
CT	Computertomographie
DCIS	Duktales Carzinoma in situ
DNA	Desoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)
ED	Erstdiagnose
<i>EGFR</i>	Epidermal Growth Factor Receptors
ER	Östrogenrezeptor
<i>ERBB2</i>	v-erb-b2 erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 2
<i>FGF</i>	Fibroblast growth factor
<i>FGFR</i>	Fibroblast growth factor-Rezeptor
G1-Phase	Gap-Phase 1
<i>gBRCA1/2 Gen</i>	Keimbahn (germline) Mutation im <i>BRCA</i> -Gen
<i>Her2</i>	Human epidermal growth factor-Rezeptor 2
<i>HNF1A</i>	hepatocyte nuclear factor 1 homeobox A
IHC	immunhistologische Untersuchung
<i>JAK2</i>	Just-another-kinase 2
Ki67	Proliferationsindex
<i>KMT2A</i>	Histone-lysine N-methyltransferase 2A
<i>KRAS</i>	Kirsten rat sarcoma viral oncogene
LCIS	Lobuläres Carcinoma in situ
<i>MDM2</i>	E3 Ubiquitinligase welche p53 proteasomal degradiert
<i>MDM4</i>	bindet und sequestriert p53
<i>MEN1</i>	Multiple endokrine Neoplasie Typ 1
MMR	Mismatch-Reparatur
MRT	Magnetresonanztomografie
MSS/MSI	Mikrosatellitenstabilität
mut	Mutiert
<i>myc</i>	c-myc, myelocytomatosis viral oncogene
NGS	Next-Generation-Sequencing

NSCLC	nicht-kleinzelliges Lungenkarzinom
NST	Nicht-spezzieller Typ
<i>NTRK 1-3</i>	Neurotrophe Tyrosin-Rezeptor Kinasen 1-3
PARP	Poly (ADP-ribose)-Polymerase
<i>PDGFRB</i>	platelet derived growth factor receptor beta
PI3K	Phosphatidylinositol-3-Kinasen
<i>PIK3CA</i>	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha
PR	Progesteronrezeptor
<i>PTEN</i>	phosphatase and tensin homolog
<i>RET</i>	Rearranged during Transfection
<i>RICTOR</i>	Rapamycin-insensitive companion of mammalian target of rapamycin
<i>RPS6KB1</i>	ribosomale Protein-S6-Kinase beta-1
RTK	Rezeptor-Tyrosinkinasen
SERM	selective estrogen receptor modulator
S-Phase	Synthese-Phase
Tab.	Tabelle
TMB	tumor mutational burden
TNBC	Triple-negativer Brustkrebs
TNM	TNM Classification of Malignant Tumors Tumor, Nodes (Lymphknoten), Metastasen
<i>TP53</i>	Tumorsuppressorgen 53
UICC	Internationale Vereinigung gegen Krebs (Union internationale contre le cancer)
vs	Versus
z.B.	zum Beispiel

Tabellenverzeichnis

Tab.1 Charakteristik der untersuchten Kohorte zum Zeitpunkt der ED	S.25
Tab.2 Ergebnisse <i>BRCA1/2</i> -Analyse.....	S.29
Tab.3 Ergebnisse <i>BRCA1</i> -Mutationen.....	S.29
Tab.4 Ergebnisse <i>BRCA2</i> -Mutationen.....	S.30
Tab.5 Ergebnisse <i>PIK3CA</i> -Analyse.....	S.30
Tab.6 Übersicht Ergebnisse der Mutationsanalyse.....	S.32
Tab.7 Verteilung der Gene mit potentiell klinisch relevanten Mutationen..	S.29
Tab.8 Verteilung der Gene mit möglicher Kopienzahlveränderung.....	S.36

Abbildungsverzeichnis

Abb.1 Therapierelevante Biomarker beim Mammakarzinom	S.18
Abb.2 Darstellung der Therapierelevanz der Befunde.....	S.29
Abb.3 Verteilung der Gene mit potentiell klinisch relevanten Mutationen.	S.31
Abb.4 Verteilung der Gene mit möglicher Kopienzahlveränderung.....	S.33
Abb.5 <i>BRCA</i> -Keimbahntestung abhängig von Rezeptorstatus und Familienanamnese.....	S.39

Zusammenfassung

In den letzten Jahren haben sich die Therapiemöglichkeiten des Mammakarzinoms deutlich verbessert. Durch die Analyse von genetischen Veränderungen in den Tumorzellen oder in der Keimbahn ist eine zielgerichtete Tumorthapie bei einigen Subgruppen möglich; z.B. mit PARP- und PIK3CA-Inhibitoren.

In einer retrospektiven Analyse wurde in dieser Arbeit untersucht, wie genetische Mutationsanalysen in einer onkologischen Schwerpunktpraxis eingesetzt werden. Es sollte untersucht werden, wie häufig PatientInnen in einer onkologischen Praxis mit metastasiertem Mammakarzinom eine Mutationsanalyse brustkrebsassoziierter Gene erhalten haben, und welche Konsequenzen daraus gezogen wurden. Dabei wurde der Zeitraum von 2019 – 2022 betrachtet. Mithilfe der Software Albis wurden Daten von 49 PatientInnen identifiziert. 40 PatientInnen haben eine Keimbahndiagnostik der Gene *BRCA1/2* erhalten. Von den PatientInnen, die die *BRCA1/2*-Analyse bekommen haben, konnten in 20% der PatientInnen eine Mutation in *BRCA1* oder *2* detektiert werden. Bei den meisten dieser PatientInnen wurde der PARP Inhibitor Olaparib therapeutisch eingesetzt. 10 PatientInnen erhielten eine PIK3CA-Analyse, 9 von ihnen mittels PCR und eine mittels NGS. In dieser Gruppe wurde bei einer Patientin eine Mutation im *PIK3CA*-Gen ermittelt. 15 PatientInnen haben eine Multigenpanel-Diagnostik erhalten. Dabei ist eine Reihe weiterer genetischer Veränderungen nachgewiesen worden. Für einige dieser Veränderungen stehen therapeutische Möglichkeiten zur Verfügung, die zwar nicht für das Mammakarzinom, aber für andere Tumorentitäten bereits zugelassen sind.

Summary

In recent years, the therapeutic options for breast cancer have improved significantly. By analyzing genetic changes in the tumor cells or in the germ line, targeted tumor therapy is possible in some subgroups; e.g. with PARP and PIK3CA inhibitors.

In a retrospective analysis, this work examined how genetic mutation analyzes are used in an oncological practice with focus on breast cancer. It was to be investigated how often patients in an oncological practice with metastatic breast cancer received a mutation analysis of breast cancer-associated genes and what consequences were drawn from this. The period from 2019 to 2022 was considered. Data from 49 patients were identified using the Albis software. 40 patients received a germline diagnosis of the genes *BRCA1/2*. Of the patients who received the *BRCA1/2* analysis, a mutation in *BRCA1* or *2* could be detected in 20% of the patients. The PARP inhibitor olaparib was used therapeutically in most of these patients. 10 patients received a *PIK3CA* analysis, 9 of them by PCR and one by NGS. In this group, a mutation in the *PIK3CA* gene was identified in one patient. 15 patients received multigene panel diagnostics. A number of other genetic changes have been detected. For some of these changes, therapeutic options are available that are not approved for breast cancer, but are already approved for other tumor entities.

1.1 Epidemiologie und Risikofaktoren

Das Mammakarzinom ist in Deutschland der häufigste bösartige Tumor der Frau. Jährlich werden 70.000 Neuerkrankungen verzeichnet.¹ Desweiteren ist es die häufigste Todesursache bei Frauen zwischen 35 und 55 Jahren.² Männer erkranken deutlich seltener. In den letzten Jahren ist die Inzidenz gestiegen. Dies ist einerseits in der erhöhten Lebenserwartung begründet; denn mit zunehmendem Alter steigt das Risiko, am Mammakarzinom zu erkranken. Andererseits wird die Entstehung des Mammakarzinoms durch Umwelteinflüsse sowie den modernen Lebensstil begünstigt.^{1,3} Für die Entstehung vom Mammakarzinom werden v.a. folgende Risikofaktoren verantwortlich gemacht: frühe erste Menstruation, späte letzte Menstruationszyklen, Adipositas, Alter, Rauchen, langanhaltende Hormonersatztherapie während der Wechseljahre, späte erste Schwangerschaft und Alkohol.²

1.2 Klassifikation

Die histologische Einteilung des Mammakarzinoms erfolgt in invasive und nicht-invasive Tumore. Ein nicht-invasiver Tumor hat die Basalmembran noch nicht penetriert, während ein invasiver Tumor die Basalmembran überschritten hat. Bei den nicht-invasiven Tumoren unterscheidet man zwischen dem ductalen Carcinoma in situ (DCIS) und dem lobulären Carcinoma in situ (LCIS).⁴ Die häufigste Form der invasiven Karzinome ist das Karzinom „No Special Type“. Es bildet eine heterogene Gruppe von Tumoren, die nicht genug Charakteristika aufweisen, um sich einer spezifischen Form des Mammakarzinoms zuordnen zu lassen. Die zweithäufigste Form stellt das invasiv lobuläre Karzinom dar. Dieses ähnelt morphologisch dem LCIS. Weitere histologische Formen des invasiven Mammakarzinoms sind u.a. das kribiforme, das medulläre, das muzinöse und das tubuläre Karzinom.⁵

Zur Beurteilung des Tumorstadiums wird die TNM-Klassifikation der UICC genutzt. Sie beinhaltet die Größe des Primärtumors (T), die Anzahl der befallenen Lymphknoten (N), sowie das Vorhandensein von Metastasen (M). Erfolgt die Stadieneinteilung anhand von klinisch erhobenen Ergebnissen, erhält das TNM-

Stadium mit dem Präfix „c“. Wird die Stadieneinteilung anhand von pathologischen Untersuchungen vorgenommen, erhält das TNM-Stadium das Präfix „p“.⁶

Das Grading beschreibt die Differenzierung der Zellen im Tumorverband. Dabei werden Tubulusausbildung, Kernpleomorphie und Mitoserate in Betracht gezogen. Das Grading hat drei Stufen, G1 bis G3.⁶ Ein hoher Grading-Score bedeutet eine schlechte Differenzierung des Tumors und ist mit einer schlechten Prognose assoziiert.⁷

1.3 Diagnostik

Die Diagnostik umfasst die klinische Untersuchung, die bildgebende Diagnostik sowie die Biopsie.

Die ärztliche Inspektion und Palpation stehen an erster Stelle in der Brustkrebsfrüherkennung.⁸ Für die Selbstuntersuchung ist keine Reduktion der Mortalität nachgewiesen; sie wird allerdings empfohlen, um das Selbstbewusstsein von Frauen für Vorsorgeprogramme zu stärken.⁸⁻⁹

Die Mammographie ist im Rahmen der Früherkennung die einzige nachgewiesene Methode zur Reduktion der Brustkrebsmortalität.⁸ Sie ermöglicht das frühzeitige Entdecken von bösartigen Tumoren durch die Analyse von Mikroverkalkungen. Bei weniger dichtem Drüsengewebe können bis 90% der Fälle in der Mammographie entdeckt werden.¹

Eine wichtige ergänzende Methode der bildgebenden Diagnostik stellt die Mammasonographie dar. Sie wird in der Früherkennung, Erstbeurteilung sowie zur Verlaufskontrolle des Mammakarzinoms eingesetzt. Die Sonographie eignet sich vor allem bei der Untersuchung von dichtem Drüsenkörper.¹

Die Biopsie stellt den Goldstandard für die Diagnosestellung dar. Standardmethode bei soliden Veränderungen ist die Hochgeschwindigkeits-Stanzbiopsie.¹⁰ Dafür wird ein Stanzgerät unter Ultraschall- oder Röntgenkontrolle mit einer hohen Geschwindigkeit durch den Tumor geschossen. Es sollten mindestens drei Gewebeproben an unterschiedlichen Stellen

entnommen werden.¹

1.4 Therapie

Die Therapieplanung erfolgt individuell nach Vorliegen des histologischen Befundes. Zur Behandlung des Mammakarzinoms gehören lokale Therapieansätze (Bestrahlung, OP) sowie systemische Therapieansätze (Chemotherapie, Hormontherapie und Immuntherapie).

Das Ziel der Operation ist die lokale Erkrankungsfreiheit durch die Entfernung aller Tumorzellen. Dies kann durch einen radikalen Eingriff wie die Mastektomie oder die brusterhaltende Therapie geschehen. Heute hat sich die brusterhaltende Therapie (BET) mit nachfolgender Strahlentherapie als Standardverfahren etabliert.¹¹

Die postoperative Strahlentherapie stellt eine wichtige Säule der Mammakarzinombehandlung dar. Sie senkt das Rückfallrisiko sowie die Metastasenbildung.¹²

Die endokrine Therapie ist ein essentieller Bestandteil der Behandlung vom hormonrezeptorezeptorpositiven Mammakarzinom und hat in Studien eine signifikante Reduktion des Rezidivrisikos sowie der Mortalität gezeigt. Das Ziel der endokrinen Therapie besteht in der Reduktion der körpereigenen Östrogenwirkung. Dafür stehen drei verschiedene Wirkstoffgruppen zur Verfügung: die selektiven Östrogenrezeptormodulatoren (SERM), sowie die Aromatasehemmer und die Selektiven Estrogenrezeptor Degrader (SERDs). Aromatasehemmer wirken über eine Hemmung der körpereigenen Östrogenproduktion, während die Gruppe der SERM (z.B. Tamoxifen) über eine kompetitive Hemmung an intrazellulären Östrogenrezeptoren wirkt. SERDS fördern den Abbau von Östrogenrezeptoren und hemmen das östrogenabhängige Tumorstadium.¹³

Die endokrine Therapie hat in Studien eine signifikante Reduktion des Rezidivrisikos sowie der Mortalität gezeigt. Unter Tamoxifentherapie konnte darüber hinaus die Rate an kontralateralen Mammakarzinomen um bis zu 50 %

verringert werden.¹⁴⁻¹⁵ Im Vergleich zum Einsatz von Tamoxifen hatten Patienten unter einer Therapie mit einem Aromatasehemmer in Studien einen Vorteil bezüglich des rückfallfreien Überlebens.¹⁶

Chemotherapeutische Wirkstoffe hemmen die Vermehrung der Tumorzellen, indem sie in den Zellteilungsprozess eingreifen. Es gibt verschiedene Gruppen von Zytostatika, die in unterschiedlichen Phasen des Zellzyklus agieren. Als verfügbare Wirkstoffe seien folgende Gruppen genannt:¹⁷

- Anthrazykline, z. B. Doxorubicin, Epirubicin
- Alkylantien, z. B. Cyclophosphamid
- Antimetabolite, z. B. Fluorouracil/5-FU, Capecitabin, Methotrexat, Gemcitabin
- Platinderivate, z. B. Carboplatin, Cisplatin,
- Mitosehemmer
- Taxane, z. B. Paclitaxel, Docetaxel, Nab-Paclitaxel
- Vinca-Alkaloide, z. B. Vinorelbin
- Halichondrin-B-Analoga, z. B. Eribulin

Eine weitere Therapieoption des Mammakarzinoms stellt die Behandlung mit monoklonalen Antikörpern wie z.B. Trastuzumab dar. Das Zielprotein dieser AK-Therapie ist das Wachstumsprotein HER2, welches bei ca. 15-25% der Mammakarzinome amplifiziert oder überexprimiert ist. Tumoren, die HER-2/neu überexprimieren, zeigen ein aggressiveres Tumorstadium und eine schlechte Prognose.¹⁸⁻¹⁹ Der Einsatz von Trastuzumab in Kombination mit einer Chemotherapie hat sich als eine effektive Therapieoption erwiesen und zu einer Verbesserung der Prognose geführt. Weitere zugelassene Antikörper sind Pertuzumab und die Antikörper-Wirkstoff-Konjugate TDM1 und TDX-d. Pertuzumab bindet den Her2 Rezeptor an einer anderen Bindungsstelle und wirkt synergistisch mit Trastuzumab, sowohl beim frühen wie beim fortgeschrittenen Mammakarzinom. Trastuzumab-Emtansin (TDM1) und Trastuzumab-Deruxtecan (TDX-d) sind Antikörper-Wirkstoff-Konjugate (ADC). Bei den ADCs werden zytotoxische Substanzen über einen Linker an den

Antikörper gekoppelt. TDX-d ist ein Antikörper-Wirkstoff-Konjugat, das aus dem humanisierten Antikörper Trastuzumab besteht, der kovalent an den Topoisomerase-I-Inhibitor Deruxtecan gebunden ist. Neue Daten aus Studien beweisen ein verbessertes Überleben unter TDX-d-Therapie im Vergleich zur TMD1-Therapie.²⁰

Neben den HER2-Therapien seien als weitere zielgerichtete Therapien genannt:

- PD-L1 / PD-1 Inhibitoren (Atezolizumab, Pembrolizumab): Sie aktivieren die Immunabwehr gegen Tumoren, indem sie die gegen den Tumor gerichtete zytotoxische T-Zellantwort wiederherstellen. In Studien zeigten die Checkpointinhibitoren bei Patienten mit frühem und fortgeschrittenen triple negativen Mammakarzinom eine Verbesserung der Therapieergebnisse.²¹
- CDK4/6 Inhibitoren (Palbociclib, Ribociclib, Abemaciclib): Die CDK4/6-Hemmer wirken über eine selektive Hemmung der Cyclin-abhängigen Kinasen 4 und 6, die von elementarer Bedeutung für die Zellzyklusprogression und die Zellproliferation sind. In den Zulassungsstudien zeigten die Kombination von CDK4/6 Hemmer mit endokriner Therapie ein signifikant verbessertes Überleben.²²
- mTOR Inhibitor (Everolimus): Everolimus wirkt über eine Hemmung von mTOR. Dadurch kommt es zur Hemmung der Proteinsynthese, Angiogenese und Glukoseaufnahme, wodurch das unkontrollierte Zellwachstum gestoppt wird. Everolimus wird in der Therapie des ER+/HER2– metastasierten Mammakarzinoms in Kombination mit Exemestan eingesetzt.²³
- PARP Inhibitoren (Olaparib, Talazoparib): PARP-Inhibitoren (Poly ADP-Ribose-Polymerase-Inhibitoren) hemmen die DNA-Reparatur in Tumorzellen. Die PARP-Inhibitoren Olaparib und Talazoparib sind für Patientinnen mit metastasiertem Her2-negativen Mammakarzinom mit einer Keimbahn BRCA-Mutation zugelassen.²⁴
- Tyrosinkinaseinhibitoren wie Alpelisib, Lapatinib, Neratinib, Tucatinib:

Die PI3-Kinasen sind an einer Vielzahl von zellulären Schlüsselfunktionen, wie dem Zellzyklus und Zellmigration, beteiligt. Eine Mutation im kodierenden PIK3CA-Gen ist an der Entstehung verschiedener Tumoren beteiligt. Alpelisib ist zur Behandlung von postmenopausalen Patientinnen und von männlichen Patienten mit Hormonrezeptor (HR)-positivem, HER2-negativem, metastasiertem Mammakarzinom mit Nachweis einer PIK3CA-Mutation zugelassen.²⁵

Für die Therapie des metastasierten, HER2-positiven Brustkrebs ist seit 2008 der Tyrosinkinase-Hemmer Lapatinib zugelassen. Er blockiert die Signalübertragung von HER2 und EGFR. Der Tyrosinkinase-Hemmer Neratinib blockiert drei Signalübertragungswege über die Rezeptoren HER2, HER4 und EGFR. Er ist seit 2018 für das frühe Stadium von HER2+/Hormonrezeptor-positivem Brustkrebs zugelassen, in der erweiterten adjuvanten Therapie nach einer Trastuzumab-Vortherapie. Ein weiterer Tyrosinkinase-Hemmer - Tucatinib - ist in Kombination mit Trastuzumab und Capecitabin zur Behandlung von HER2-positivem metastasiertem Brustkrebs zugelassen.²⁶

In der metastasierten Situation ist eines der wichtigsten Therapieziele die Erhaltung der Lebensqualität. Bei Hormonabhängigkeit stellt die endokrine Therapie die first-line Therapie dar. Handelt es sich nicht um eine rasch progrediente Erkrankung, wird sie der Chemotherapie vorgezogen.

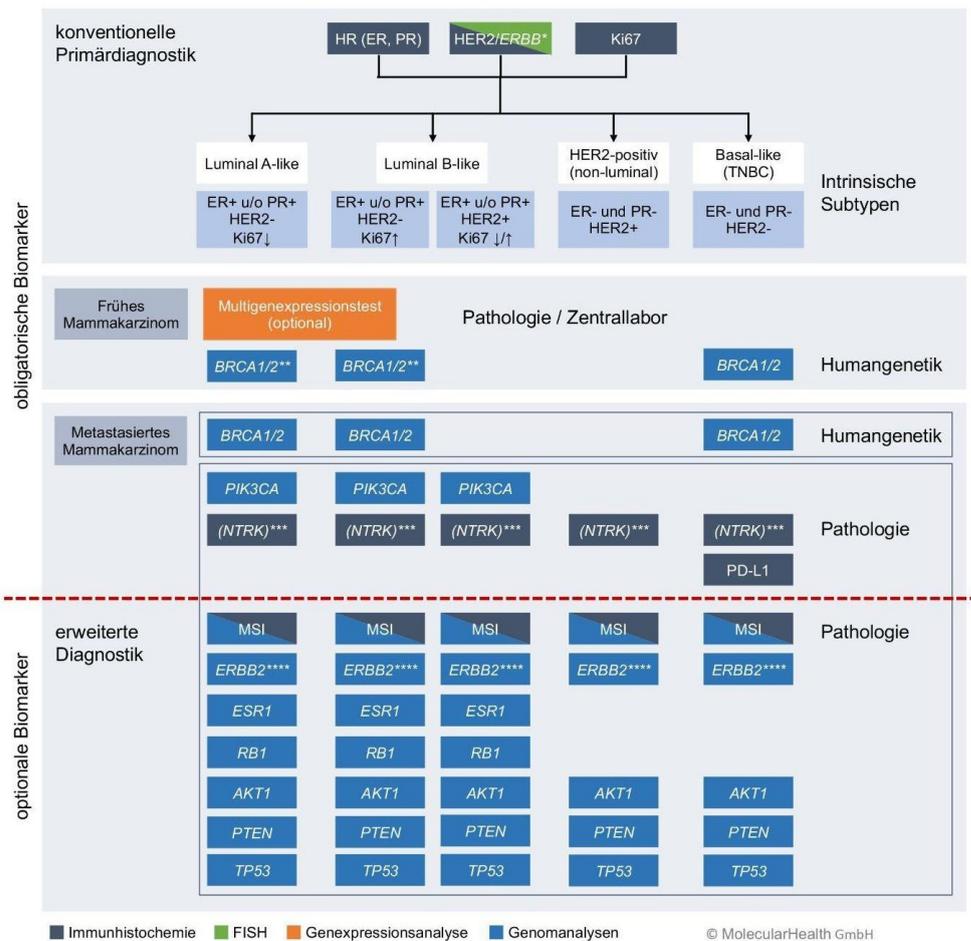
Die Chemotherapie ist bei einem lebensbedrohlich fortschreitenden Tumorprogress oder bei Notwendigkeit einer schnellen Remission indiziert. In der Regel wird eine Monochemotherapie durchgeführt. Als Substanzklassen stehen die Taxane Paclitaxel, Docetaxel und nab-Paclitaxel zur Verfügung.²⁷

1.5. Relevante Biomarker beim Mammakarzinom

Im vergangenen Jahrzehnt hat sich die molekularbiologische Charakterisierung beim Mammakarzinom etabliert. Sie hat verschiedene zielgerichtete therapeutische Ansätze ermöglicht.²⁸⁻³⁰ Die Bestimmung einiger obligater Biomarker ist bereits in den Leitlinien verankert.³¹⁻³² Dazu gehören

- der Östrogenrezeptor (ER) und Progesteronrezeptor (PgR). Beide werden immunhistochemisch bestimmt. Sie sind für eine endokrine Therapie des Mammakarzinoms relevant.
- die Amplifikation oder Überexpression des *HER2*-Gens. Diese wird immunhistochemisch oder per In-situ-Hybridisierung (ISH) nachgewiesen. Die Überexpression des Proteins ist relevant für die Therapie mit Trastuzumab.
- die Expression von Ki-67. Sie stellt ein Maß für die Proliferationsrate und damit für die Aggressivität des Tumors dar^{11,33}

Die erweiterte molekulare Diagnostik stellt eine Fortführung der oben genannten Untersuchungen dar (Abb. 1).



*ERBB2: Genname von HER2; **Nach EMA-Zulassung von Olaparib für die adjuvante Therapie; ***Test auf NTRK-Genfusion erst mittels Immunhistochemie, bei positivem Befund Genomanalyse mittels NGS. Bei sekretorischem Mammakarzinom direkt NGS-Analyse; ****ERBB2-Mutationen, unabhängig von ERBB2-Amplifikation.

HR: Hormonrezeptor; ER: Östrogenrezeptor; PR: Progesteronrezeptor; HER2: *Human Epidermal Growth Factor Receptor 2*; TNBC: triple negativer Brustkrebs

Referenzen

1. Interdisziplinäre S3-Leitlinie für die Früherkennung, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms Langversion 4.3 – Februar 2020 AWMF-Registernummer: 032-045OL; 2. https://www.ago-online.de/fileadmin/ago-online/downloads/leitlinien/kommission_mamma/2021/PDF_DE/2021D%2005_Prognostische%20und%20praediktive%20Faktoren.pdf; 3. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. The Cancer Genome Atlas Network. *Nature* volume 490, pages61–70(2012); 4. Goldhirsch et al, *Annals of Oncology* 24: 2206–2223, 2013 doi:10.1093/annonc/mdt303 (St Gallen Empfehlung).

Abb.1 Therapierelevante Biomarker beim Mammakarzinom³⁴

Die Indikation für eine erweiterte molekulare Diagnostik wird von einer Tumorkonferenz gestellt, wenn sie für die Therapieplanung notwendig ist.³⁴ Es werden insbesondere weitere genetische Veränderungen analysiert, um neue therapeutische Ansätze für die PatientInnen zu finden.

Dazu gehören beispielsweise

- *PIK3CA*-Mutationen: Sie gehören zu den häufigsten Mutationen und treten bei ca. 20% der Mammakarzinome auf.

-*ERBB2*-Mutationen. Sie treten mit einer Inzidenz von 15 % auf. Sie sind relevant für eine Therapie mit den Tyrosinkinase-Inhibitoren Neratinib und Lapatinib.

- Mutationen im *AKT* bzw. *PTEN*-Gen. Sie sind relevant für eine Therapie mit Proteinkinase-B-Inhibitoren Capivasertib und Ipatasertib.

- Nachweis einer Mikrosatelliteninstabilität (MSI). In Studien haben Mammakarzinome mit MSI ein gutes Ansprechen auf Immuncheckpoint-Inhibitoren (z.B. Pembrolizumab) gezeigt.

- Inaktivierende Genveränderungen des Tumorsuppressorgens *TP53*. Derzeit werden klinische Substanzen erprobt, die die Funktion des Tumorsuppressorgens direkt oder indirekt wiederherstellen.³⁴

2. Ziele der Arbeit

Ziel der Arbeit ist es, die Mutationsrate von therapielevanten Tumormarkern (*BRCA*, *PIK3CA*) sowie potenziell therapielevanten Genen in einer Mutationsanalyse bei Patientinnen mit Mammakarzinom in einer onkologischen Schwerpunktpraxis zu untersuchen.

Diese Arbeit beschreibt

1. Die Häufigkeit der o.g. Mutationen bei metastasiertem Mammakarzinom
2. Die Konsequenzen für den weiteren therapeutischen Verlauf

3. Patienten und Methoden

3.1 Patientenkollektiv und Patientenauswahl

In der vorliegenden Arbeit sind die Daten von 49 PatientInnen aus dem Centrum für Hämatologie und Onkologie Bethanien ausgewertet worden. Diese haben im Zeitraum von 2019 bis 2022 eine erweiterte molekulare Diagnostik erhalten.

Gesammelt wurden die Daten der PatientInnen mithilfe der elektronischen Datenbank Albis und dem ICD-10-Diagnoseschlüssel der Diagnose eines metastasierten Mammakarzinoms. Bei der Suche nach geeigneten Patienten wurden die Stichworte „metastasiert“ und „Mammakarzinom“ verwendet. Unter diesem Suchfilter ergab sich eine Liste von 138 PatientInnen. Im Zeitraum von 2019-2022 erhielten 33 % von ihnen eine erweiterte molekulare Diagnostik.

Die BRCA1/2-Gendiagnostik ist an unterschiedlichen Instituten für Humangenetik durchgeführt worden. 44 Patientinnen sind eingeschlossen worden.

Zehn PatientInnen wurden im OptiPath, dem Medizinischen Zentrum für Pathologie, auf eine PIK3CA-Mutation hin untersucht.

15 PatientInnen erhielten im WildLab, dem Labor der Universitätsklinikum Frankfurt, eine Mutationsanalyse mittels NGS. Im Befund des Wildlabs sind zudem Hinweise auf therapeutische Möglichkeiten enthalten.

Der klinische Verlauf, und das therapeutische Vorgehen konnten anhand der Arztbriefe dokumentiert werden. Die gesammelten Daten wurden in einer Exceldatei dokumentiert und strukturiert. Bei drei Patientinnen lag nur eine Metastasierung in den regionalen Lymphknoten, aber keine Fernmetastasierung vor. Sie sind auf BRCA1/2 untersucht worden. Eine wurde BRCA1/2 negativ getestet. Eine war BRCA1 positiv und erhielt eine Therapie mit Olaparib. Eine war BRCA2 positiv und wurde bis dato nicht mit Olaparib behandelt.

Die Patienten-Charakteristika sind in Tab.1 dargestellt.

Eigenschaften	Anzahl PatientInnen n (%)
Alter	
Mittleres Erkrankungsalter	48 Jahre
Mittleres Alter	61 Jahre
Altersspanne	37-90 Jahre
Geschlecht	
weiblich	48 (98%)
männlich	1 (2%)
Histologischer Typ	
Invasiv duktal (NST)	19 (39%)
Invasiv lobulär	3 (6%)
Andere	0 (0%)
Nicht beschrieben	12 (24%)
Primäres Tumorstadium	
0	0 (0%)
1	19 (39%)
2	13 (37%)
3	9 (18%)
4	2 (4%)
Nicht beschrieben	6 (12%)
Lymphknotenbeteiligung	
N0	9 (18%)
N1	11 (22%)
N2	9 (18%)
N3	5 (10%)
Nx	2 (4%)
N+	3 (6%)
Nicht beschrieben	10 (20%)
Fernmetastasenstadium bei ED	
M0	21 (43%)
M1	17 (35%)
Mx	1 (2%)
Nicht beschrieben	10 (20%)
Fernmetastasenstadium aktuell	
M0	3 (6%)
M1	43 (88%)
Mx	0 (0%)
Nicht beschrieben	0 (0%)
Fernmetastasenlokalisierung	
Haut	2 (4%)
Leber	12 (24%)
Gastrointestinaltrakt	3 (6%)
Lunge	7 (14%)
Pleura	7 (14%)

Orbita	2 (4%)
Knochen	31 (63%)
ZNS	5 (10%)
Grading	
G1	0 (0%)
G2	26 (53%)
G3	13 (27%)
Nicht beschrieben	9 (18%)
Her2-Expression	
Positiv	1 (2%)
negativ	48 (98%)
Hormonrezeptorstatus	
Positiv	45 (92%)
Negativ	4 (8%)

Tab.1 Charakteristik der untersuchten Kohorte zum Zeitpunkt der ED

3.2 PCR-Analyse

Die PCR besteht aus drei Teilschritten: Im ersten Schritt erfolgt die Denaturierung, bei der der DNA-Doppelstrang bei Temperaturen zwischen 90-95C aufgetrennt wird. Im zweiten Schritt, dem Annealing, kommt es zur Anlagerung eines gegenläufig orientierten Primers an jeden DNA-Einzelstrang. Sie erfolgt bei einer Temperatur von 55-65C. In der letzten Phase, der Elongation, wird die Zielsequenz von der DNA-Polymerase komplementär verlängert. Der gesamte Zyklus wird 30 bis 40 mal wiederholt, sodass die Zielsequenz exponentiell amplifiziert wird. An die Amplifikation schließt sich die Sequenzierung an.³⁵

3.3 NGS-Analyse

Die NGS-Analyse ist eine neue Technologie, die die parallele Analyse von mehreren Genabschnitten ermöglicht. Um das gesamte menschliche Genom zu sequenzieren, müssten viele Abschnitte zusammengefügt werden, was mit einem enormen Arbeitsumfang und hohen Kosten verbunden wäre. Die NGS ermöglicht die parallele Sequenzanalyse einer Vielzahl von Genen unter Verwendung bioinformatischer Technologien. Dies führt zu einer Kostenersparnis und höheren Effektivität.³⁶

Zu den NGS-Methoden zählen die Ganzgenomsequenzierung sowie die Sequenzierung von ausgewählten Bereichen des Genoms (Targeted Sequencing). Unter die Targeted-Sequencing Methoden fallen noch weitere Sequenzierungsmethoden wie die Exomsequenzierung, Multigen-Panels sowie Einzelgenanalysen.

Die NGS-Analyse erfolgt in folgenden Schritten: Die Probenvorbereitung und Extraktion der DNA und RNA aus dem FFPE-Gewebe, Herstellung der NGS-Bibliothek, klonale Amplifikation mit Sequenzierung, sowie die bioinformatische Datenanalyse. Im ersten Schritt erfolgt eine Isolierung der DNA und RNA aus dem Formalin-fixierten in Paraffin eingebetteten Tumorblock. Diese wird in kürzere doppelsträngige DNA-Abschnitte fragmentiert. Die resultierenden DNA-Abschnitte werden an Adaptersequenzen ligiert und es kommt zur Erstellung einer DNA-Bibliothek. Mittels PCR wird diese DNA-Bibliothek in großen Mengen vervielfältigt. Die Aufteilung in Cluster ermöglicht es, viele Sequenzierungen in sehr kurzer Zeit durchzuführen. Die erhaltenen molekularen Daten werden anschließend gespeichert und interpretiert.³⁷

4. Ergebnisse

4.1 gBRCA1/2-Analyse

	Hormonrezeptorpositive PatientInnen n (%)	Triplenegative PatientInnen n (%)
Gesamtanzahl	40 (100%)	4 (100%)
gBRCA1- Mutationsstatus positiv negativ	3 (8%) 37 (92%)	1 (25%) 3 (75%)
gBRCA2- Mutationsstatus positiv negativ	5 (13%) 35 (87%)	2 (50%) 2 (50%)

Tab.2 Ergebnisse BRCA1/2-Analyse

28 PatientInnen erhielten eine Keimbahndiagnostik der BRCA1/2-Gene im Institut für Humangenetik Wiesbaden mittels PCR. Zwölf PatientInnen sind in verschiedenen Instituten für Humangenetik mittels NGS auf BRCA1/2 getestet worden. Bei vier PatientInnen konnten das Labor und die Methode der BRCA1/2-Analyse nicht ermittelt werden. Bei zwei positiv getesteten BRCA1- und BRCA2-MutationsträgerInnen waren keine Unterlagen über die exakte Mutationslokalisierung verfügbar.

Unter den hormonrezeptorpositiven PatientInnen wurden bei 8% *gBRCA1* und bei 13% *gBRCA2*-Mutationen nachgewiesen. Unter den drei triplenegativen PatientInnen war eine positiv für *gBRCA1* und zwei positiv für *gBRCA2*. Bei fünf PatientInnen wurde angegeben, an welcher Nukleotidposition des jeweiligen Intron- oder Exonbereiches sich die Mutation befand. Zusätzlich wurde aufgeschlüsselt um welche Art der Genveränderung es sich handelte (z.B. Frameshift-, Missense- und Nonsense-Mutationen).

Exon/Intron	Benennung	Mutationstyp	N
10	c.3756_3759delGTCT	Frameshift	1
10	c.1252G>T	Nonsense	1
19	c.5266dupC	Frameshift	1

Tab.3 BRCA1-Mutationen

Exon/Intron	Benennung	Mutationstyp	N
11	c.3199delA	Frameshift	1
11	c.5170dupA	Frameshift	1

Tab.4 BRCA2-Mutationen

4.2 *PIK3CA*-Analyse

	Anzahl PatientInnen n
Gesamtkollektiv	10
<i>PIK3CA</i>- Mutationsstatus	
positiv	1
negativ	9

Tab.5 Ergebnisse *PIK3CA*-Analyse

Zehn Patientinnen wurden mittels PCR untersucht. Bei einer der zehn PatientInnen konnte eine *PIK3CA*-Mutation nachgewiesen werden. Diese wies die Hotspotmutation p.H104047R im Chromosom 3, Exon 21 auf.

4.3 Mutationsanalyse mittels Multigenpanel

4.3.1 Übersicht Ergebnisse

	Anzahl PatientInnen n (%)
Gesamtkollektiv	15 (100%)
Biopsie aus	
Primärtumor	10 (66%)
Lebermetastase	3 (20%)
Pleurametastase	1 (7%)
Nebennierenmetastase	1 (7%)
TMB-Status	
Low	1 (7%)
Intermediate	8 (53%)
High	2 (13%)
nicht auswertbar	4 (27%)
MSI-Status	
negativ	8 (53%)
positiv	0 (0%)
nicht auswertbar	7 (47%)
Nachweis potentiell klinisch relevanter Mutationen	
positiv	12 (80%)
negativ	3 (20%)
Nachweis von Genen mit möglicher Kopienzahlveränderung	
positiv	12 (80%)
negativ	3 (20%)
Nachweis von Fusionsgenen	
positiv	0
negativ	12 (80%)
nicht auswertbar	3 (20%)
Befund hinweisend auf die Möglichkeit einer gezielten Therapieoption	7 (47%)
Befund nicht hinweisend auf die Möglichkeit einer gezielten Therapieoption	8 (53%)

Tab.6 Übersicht Ergebnisse der Mutationsanalyse mittels Multigenpanel

Bei zehn Patientinnen erfolgte die Analyse am Primärtumor. Drei Patientinnen

wurden an einer Lebermetastase, eine Patientin an einer Pleurametastase und eine Patientin an einer Nebennierenmetastase biopsiert.

Bei einer Patientin wurde der TMB-Status „Low“ nachgewiesen. Acht PatientInnen wiesen den TMB-Status „Intermediate“ auf und zwei den TMB-Status „High“. Der MSI-Status war bei acht PatientInnen negativ. Bei sieben PatientInnen konnte der MSI-Status aufgrund mangelnder Qualität der Probe nicht festgestellt werden. Potenziell klinisch relevante Mutationen und Gene mit möglicher Kopienzahlveränderung konnten bei zwei PatientInnen nachgewiesen werden. Der Nachweis von Fusionsgenen war bei 80 % der PatientInnen negativ. Bei drei PatientInnen genügte die DNA in der Probe nicht, um eine Aussage zu treffen. Neun PatientInnen (60%) hatten einen Befund, der hinweisend auf die Möglichkeit einer gezielten Therapieoption war. Von den neun PatientInnen wiesen 5 PatientInnen (33%) eine PIK3CA-Mutation auf. In der abschließenden molekularpathologischen Beurteilung des Befundes wird auf eine zielgerichtete Therapie mit Alpelisib hingewiesen. Vier PatientInnen (27%) wiesen eine somatische BRCA1/2-Mutation auf. Im Anschluss daran sollte eine humangenetische Analyse in der Keimbahn erfolgen.

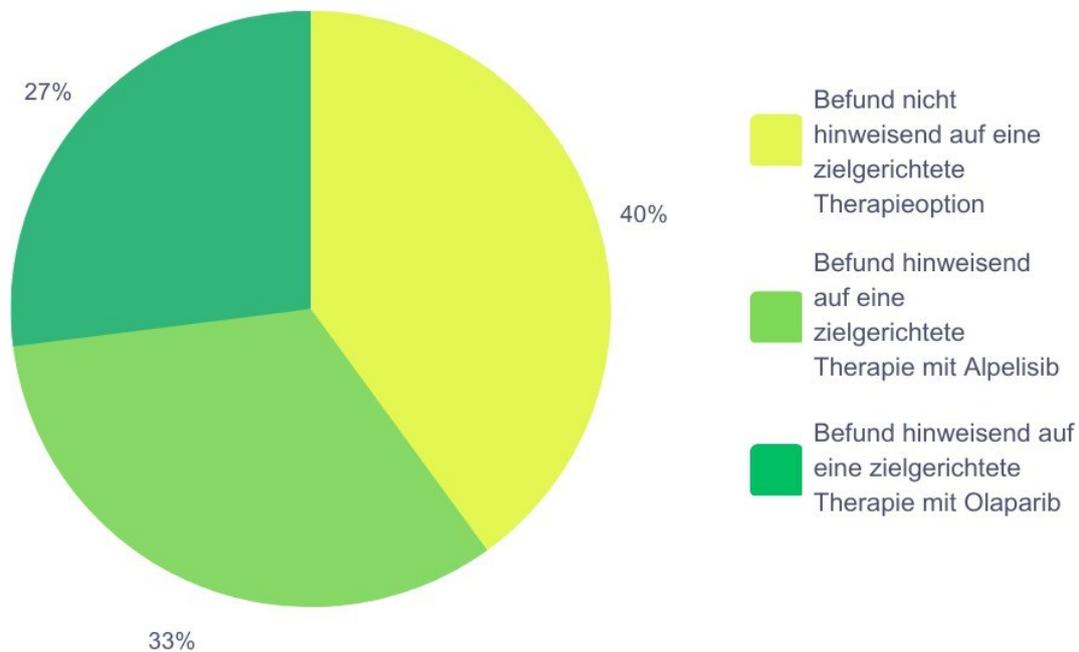


Abb.2 Darstellung der Therapierelevanz der Befunde

4.3.2 Verteilung der Gene mit potentiell klinisch relevanten Mutationen

Nachweis Mutationen in dem Gen	Anzahl PatientInnen n (%)	Level of Evidence ESCAT	Mögliche therapeutische Optionen
Gesamtanzahl	12		
PIK3CA	5	IA	Alpelisib ³⁸
TP53	4	VIA	Eprenetapopt (APR-246) ³⁹
BRCA1 Somatische Mutation	2	IIIA	PARP-Inhibitor ³⁴
BRCA2 Somatische Mutation	1	IIIA	PARP-Inhibitor ³⁴
AKT1	1	IIB	AKT-Inhibitor ⁴⁰
ARID1A	1	VIA	EZH2 Inhibitoren ⁴¹
KMT2A	1	VI oder V	n. t.
HNF1A	1	VI oder V	n. t.
MEN1	1	VI oder V	n. t.
KRAS	1	VI oder V	n. t.
AR	1	VI oder V	n. t.

Tab.7 Verteilung der Gene mit potentiell klinisch relevanten Mutationen (n. t. = nicht therapie relevant)

Das Level of evidence beschreibt die klinische Relevanz von genomischen Alterationen. Es basiert auf den Leitlinien ESMO Scale of Clinical Actionability und die Skala der Association for Molecular Pathology. Je nach ihrer klinischen Bedeutung für die Prognose der Tumorerkrankung und der Therapie werden Alterationen laut Level of Evidence in vier Stufen eingeteilt. Level of Evidence I Alterationen stehen für die höchste klinische Bedeutung und haben in Studien ein statistisch signifikantes Ansprechen auf gezielte Therapieoptionen gezeigt. Level of Evidence II-Alterationen sind potenziell relevant, allerdings ist der Nutzen noch nicht vollständig durch prospektive klinische Studien belegt. Bei Level IV liegt nur eine präklinische Evidenz für die genomische Alteration vor. Bei Level V liegt eine Evidenz für ein objektives Therapieansprechen vor; der

Nutzen ist jedoch nicht von Bedeutung.⁴²

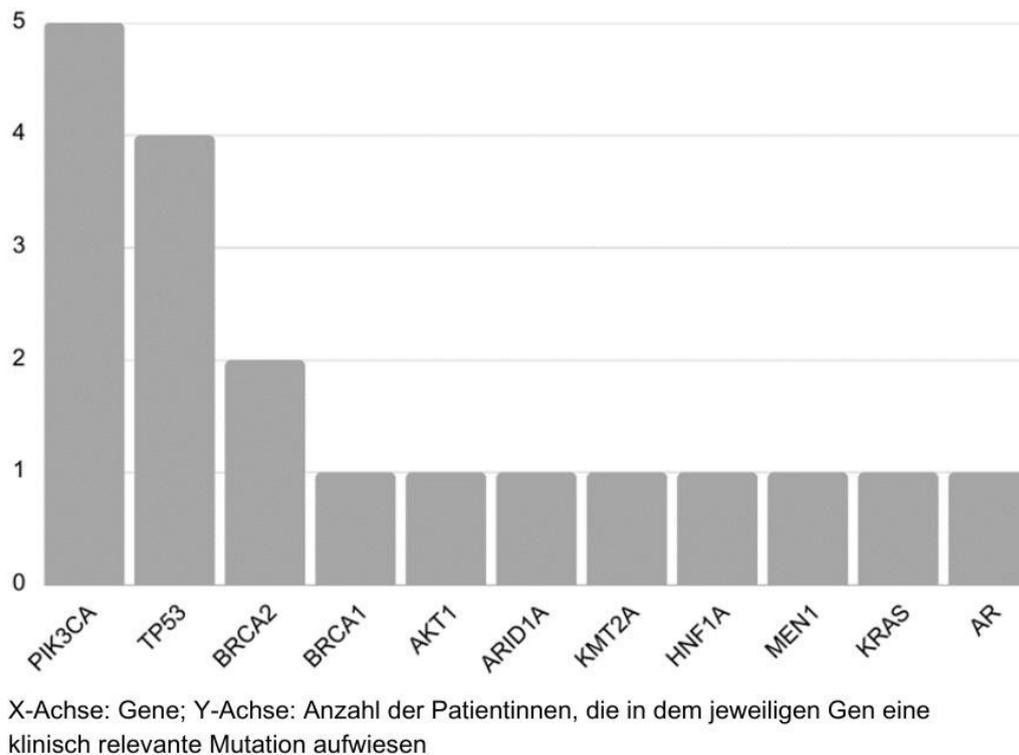


Abb.3 Verteilung der Gene mit potentiell klinisch relevanten Mutationen

Von 15 PatientInnen wiesen zwölf eine klinisch relevante Mutation auf. Die häufigste Mutation lag im Gen *PIK3CA* vor (n=5). Bei n=4 Patientinnen war das Gen *TP53* mutiert, bei n=3 *BRCA2*. Mutationen in *BRCA1* wurden in zwei Personen nachgewiesen. Mutationen in *AKT1*, *ARID1A*, *KMT2A*, *HNF1A*, *MEN*, *KRAS* und *AR* wurden in jeweils einer Person gefunden. Alterationen der Gene *KMT2A*, *HNF1A*, *MEN*, *KRAS* und *AR* können beim Mammakarzinom derzeit noch nicht zielgerichtet therapiert werden.

4.3.3 Verteilung der Gene mit möglicher Kopienzahlveränderung

Nachweis möglicher Kopienzahlveränderung in dem Gen	Anzahl PatientInnen n
Gesamtanzahl	12
<i>FGFR1</i>	5
<i>MDM4</i>	4
<i>ERBB2</i>	3
<i>CCND1</i>	3
<i>EGFR</i>	2
<i>FGF19</i>	2
<i>FGF3</i>	2
<i>RPS6KB1</i>	2
<i>MYC</i>	2
<i>JAK2</i>	2
<i>BRCA1</i>	1
<i>BRCA2</i>	1
<i>KOP2</i>	1
<i>PDGFRB</i>	1
<i>RET</i>	1
<i>CCND2</i>	1
<i>FGF10</i>	1
<i>FGF4</i>	1
<i>MDM2</i>	1
<i>RICTOR</i>	1
<i>BRAF</i>	1
<i>CDK4</i>	1

Tab.8 Verteilung der Gene mit möglicher Kopienzahlveränderung

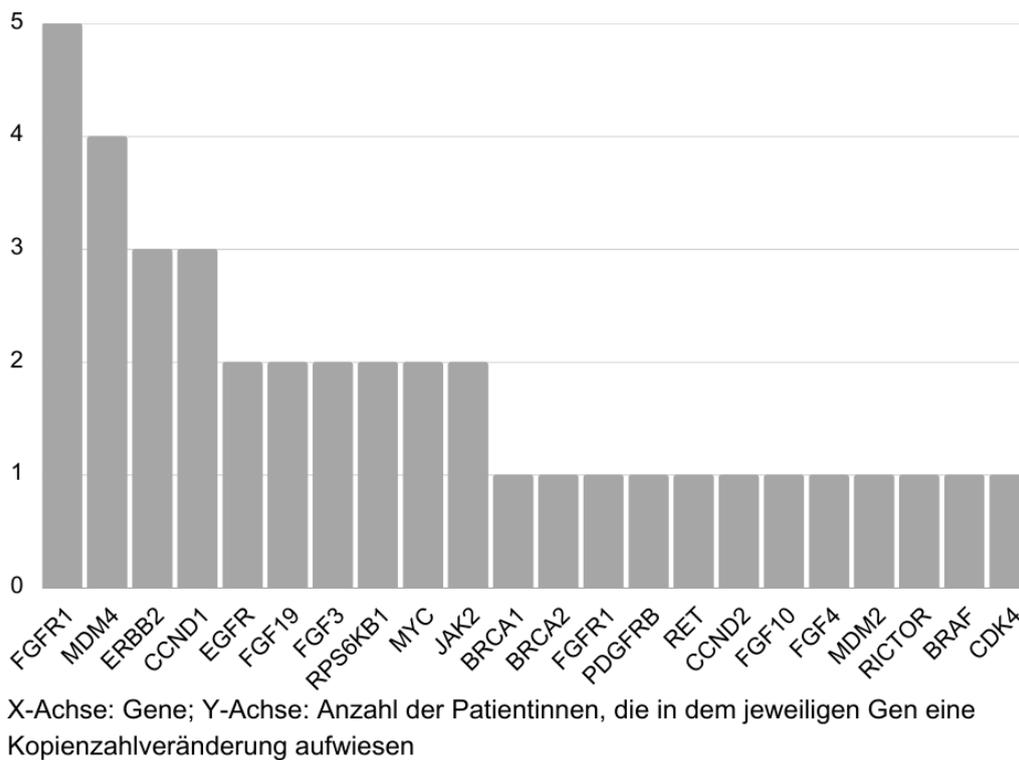


Abb.4 Verteilung der Gene mit möglicher Kopienzahlveränderung

Von 15 PatientInnen wiesen zwölf eine Kopienzahlveränderung auf, bei denen folgende Gene mitbetroffen sind. Mit n=5 Patientinnen war das Gen *FGFR1* das am häufigsten betroffene Gen. Darauf folgten *MDM4* mit n=4 Patientinnen, *ERBB2* und *CCND1* mit n=3 Patientinnen. Die Gene *EGFR*, *FGF19*, *FGF3*, *RPS6KB1*, *MYC* und *JAK2* waren bei jeweils n=2 Patientinnen mutiert. Dann folgten die Gene *BRCA1*, *BRCA2*, *FGFR2*, *PDGFRB*, *RET*, *CCND2*, *FGFR10*, *FGF4*, *MDM2*, *RICTOR*, *BRAF* und *CDK4*, welche bei jeweils n=1 Patientin betroffen waren. Im klinischen Alltag haben die möglichen Kopienzahlveränderungen der o.g. Gene noch keine therapeutischen Konsequenzen. Der Vollständigkeit halber werden sie hier jedoch mit aufgeführt, da ihre Testung Teil des Multigenpanels ist.

4.4 Therapeutischer Verlauf und Einsatz von Olaparib

Der Beobachtungszeitraum begann im April 2019. Da es erst in diesem Monat zur Zulassung von Olaparib für das Mammakarzinom kam, wurde nur eine relativ geringe Anzahl an Patientinnen mit Olaparib behandelt. Der ebenfalls 2019 zugelassene PARP-Inhibitor Talazoparib kam nicht zur Anwendung.

Neun PatientInnen wurden zwischen 2019 und 2022 mit Olaparib behandelt. Die retrospektive Auswertung ergab eine heterogene Patientengruppe. Olaparib wurde als Monotherapie nach endokriner oder Chemotherapie eingesetzt. Die längste Therapiedauer lag bei 15 Monaten, die kürzeste bei einem Monat. Die mittlere Therapiedauer lag bei 6 Monaten.

Bei sechs von neun PatientInnen zeigte sich eine gute Verträglichkeit. Die häufigste beobachtete Nebenwirkung waren die Anämie sowie abdominelle Beschwerden.

5. Diskussion

5.1 Rationale dieser Arbeit

Molekulare Analysen werden heute zunehmend in der Onkologie eingesetzt.

Bereits mehr als 50 Medikamente sind auf Basis genomischer Alterationen zugelassen worden.⁴³ Bei über 20 Tumorentitäten existieren mehr als 40 genomisch-basierte Indikationen.⁴³

Während die NGS Mutationsanalyse bei soliden Tumoren (insbesondere beim Lungenkarzinom) bereits standardmäßig eingesetzt wird, ist dies beim Mammakarzinom noch nicht der Fall.

Beim Mamma Ca ist die Mutationsanalyse von *BRCA1* und 2 in der Keimbahn von besonderer Bedeutung. Mit den Daten der OlympiAD-Studie aus 2019 und der Zulassung von Olaparib gewann die Mutationsanalyse auch beim Mammakarzinom an Therapierelevanz. Die therapeutische Konsequenz der gBRCA-Analyse legt nahe, dass alle Patienten mit metastasiertem Her2-

negativem Mammakarzinom eine genetische Untersuchung erhalten sollten.

Die Studienlage bezüglich der Frage, wie häufig die Mutationsanalyse beim Mammakarzinom in der Praxis eingesetzt wird, ist allerdings unzureichend. Ziel dieser Arbeit war es daher, Real World Daten über den Einsatz von Mutationsanalysen in der klinischen Praxis zu sammeln. Dazu wurden Patientendaten aus dem Zeitraum von 2019 bis 2022 in einer onkologischen Schwerpunktpraxis untersucht.

Die Ergebnisse dieser Arbeit weisen darauf hin, dass die Mutationsanalyse beim Mammakarzinom trotz der Therapierelevanz noch nicht breit eingesetzt wird. Von insgesamt 138 Patientinnen, bei denen ein metastasiertes Mammakarzinom diagnostiziert wurde, waren 98 Patientinnen HER2-negativ. Von ihnen wurden 49 Patientinnen auf *BRCA1/2* untersucht. Ein Grund dafür könnten die rechtlichen Regelungen der *BRCA1/2*-Analyse durch das Gendiagnostikgesetz sein. Die genetische Untersuchung in der Keimbahn verlangt die schriftliche Einwilligung der untersuchten Person. Nicht selten wird die Analyse von Patientinnen abgelehnt.

Außerdem fehlt es noch an einer standardisierten, einheitlichen Vorgehensweise. In den verschiedenen Instituten für Humangenetik, die in die retrospektive Auswertung involviert waren, variierten die Untersuchungsmethoden (PCR oder NGS).

5.2 Mutationsanalyse in der onkologischen Praxis

Die Daten dieser Studie weisen daraufhin, dass der breite Einsatz der Mutationsanalyse beim Mammakarzinom derzeit noch hauptsächlich in der Forschung vorkommt, sich aber in der klinischen Praxis noch nicht etabliert hat. Der stärkste Grund, eine Mutationsanalyse durchzuführen, ist eine Therapie mit *BRCA* Inhibitoren Olaparib und Talazoparib.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass es bei einem relativ großen Teil der *BRCA1/2*-mutierten Patientinnen zum Einsatz von Olaparib gekommen ist. Sie zeigte überwiegend eine gute Verträglichkeit.

5.3 Limitationen der Studie

Eine Schwäche dieser Arbeit stellt sicherlich die kleine Fallzahl dar. Das Kollektiv von 49 Brustkrebsfällen lässt keine signifikante Aussage zu.

Eine weitere Limitation stellt die retrospektive Datenerhebung dar. Bei einigen Patientinnen fehlten aufgrund unvollständiger Akten Angaben zum TNM-Stadium und zum histologischen Subtyp. Daher konnten die Patientencharakteristika nicht vollständig erfasst werden.

5.4 MH Guide

Die gewonnenen molekularen Datensätze sind oft so umfangreich, dass sich eine Auswertung ohne eine Software als schwierig und zeitaufwendig gestaltet.

Das digitale Tool MH Guide kommt diesem Problem entgegen. Die Software unterstützt Onkologen und Molekularpathologen bei der Interpretation der molekularpathologischen Analysen.

MH Guide identifiziert die genetischen Varianten, die für die Behandlung der Krebspatienten relevant sind und erfasst sichere und effektive Therapieoptionen. Dies geschieht durch die Anwendung von Dataome – einer der weltweit größten biomedizinischen Datenbanken. Die Software vergleicht die Daten der Patientenprobe mit aktuellem publiziertem biomedizinischem Wissen und Arzneimittelinformationen. Sie enthält Such- und Filterfunktionen wie z.B. Biomarker, Studienphase, Rekrutierungsstatus und weiteren Schlüsselparametern, mit denen geeignete Studien schnell selektiert werden können. Diese Informationen werden in einem übersichtlichen Bericht zusammengefasst.

So werden große Datenmengen in evidenzbasierte, medizinisch relevante Entscheidungshilfen umgewandelt.⁴⁴⁻⁴⁵

5.5 Diskussion der Mutationsraten

Bei der Keimbahn-Diagnostik der *BRCA1/2*-Gene sind in der hormonrezeptorpositiven Kohorte 8% *BRCA1*-Mutationen und 12,5 % *BRCA2*-Mutationen detektiert worden. Unter den vier triple-negativen Patientinnen sind eine *BRCA1*-Mutation und zwei *BRCA2*-Mutationen detektiert worden. In einer Studie von Apostolou et al. werden Mutationen in *BRCA1/2* in 5-10 % aller Mammakarzinome beschrieben.⁴⁶ In einer anderen Arbeit ist bei triple-negativen Tumoren eine *BRCA1/2* -Mutationsrate von 2,9-6,6% festgestellt worden. Bei der Untersuchung von PatientInnen mit HR-positivem, HER2-negativem Tumor wurde eine *BRCA1/2*-Mutationsrate von 1-3,4% eruiert.⁴⁷

In einer Gruppe von zehn PatientInnen ist eine *PIK3CA*-Mutationsträgerin ermittelt worden. In der Literatur werden Häufigkeiten von *PIK3CA*-Mutationen beim Mammakarzinom zwischen 20 und 40 % angegeben. Bei der Untersuchung von 1270 Mammakarzinomen in einer Studie von Reinhardt et al. wurde bei 31,4% eine Mutation im *PIK3CA*-Gen nachgewiesen.⁴⁸

5.6 Diskussion der therapeutischen Möglichkeiten

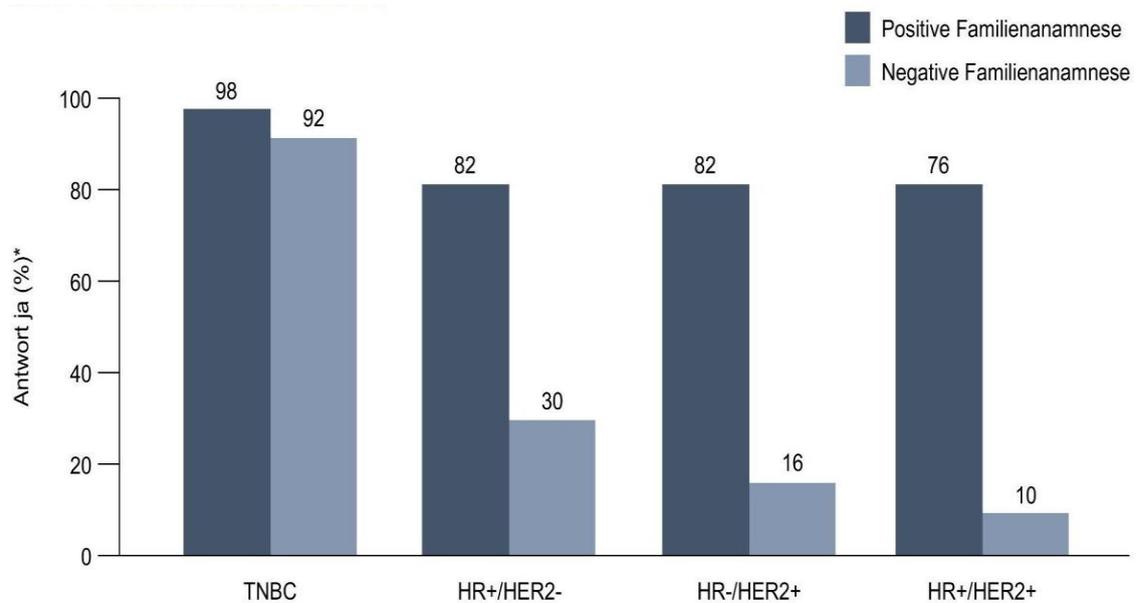
5.6.1 *BRCA1/2*

BRCA1 und 2 gehören zur Klasse der Tumorsuppressorgene und kodieren für Enzyme der DNA-Reparatur. Die Proteine *BRCA1* und 2 nehmen eine Schlüsselrolle in der Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen und der homologen Rekombination ein.

BRCA1/2-Keimbahmutationen sind mit einem gehäuften Auftreten von Brustkrebserkrankungen assoziiert. Etwa 5% aller Mammakarzinome werden durch *BRCA1/2*-Keimbahnmutationen verursacht. Außerdem machen sie 10-20 % der erblichen Brustkrebsfälle aus.⁴⁹ Personen mit *BRCA*-Mutationen haben ein erhöhtes Risiko, in jungen Jahren am Mammakarzinom zu erkranken.⁴⁹⁻⁵⁰ Die Keimbahnanalyse der *BRCA1/2*-Gene wird durch das Gendiagnostikgesetz geregelt. Sie wird an einer Blutprobe durchgeführt und kann von jedem Arzt veranlasst werden. Mit dem PARP-Inhibitor Olaparib steht eine neue

zielgerichtete Therapieoption für PatientInnen mit fortgeschrittenem oder metastasiertem Her2-negativen Mammakarzinom mit einer Keimbahn *BRCA1/2*-Mutation zur Verfügung. PARP-Inhibitoren (Poly ADP-Ribose-Polymerase-Inhibitoren) hemmen die DNA-Reparatur in Tumorzellen. In normalen Körperzellen werden Doppelstrangbrüche durch die Komponenten der homologen Rekombinationsreparatur (z.B. *BRCA1* oder *2*) repariert. Tumorzellen mit *BRCA1/2*-Mutationen fehlt diese homologe Rekombinationsreparatur. Bei Blockierung der PARP kann die beschädigte DNA in den Tumorzellen nicht repariert werden und die Tumorzellen sterben ab.⁵¹

In der OlympiAD-Studie aus dem Jahr 2019 konnte gezeigt werden, dass Im Vergleich zur Standard-Chemotherapie *BRCA1/2*-mutierte PatientInnen mit fortgeschrittenem Mammakarzinom unter Olaparib-Therapie eine signifikante Verbesserung des progressionsfreien Überlebens und der Gesamtüberlebenszeit sowie der Lebensqualität hatten.²⁴ Die therapeutische Konsequenz der *BRCA1/2*-Analyse legt nahe, dass PatientInnen mit metastasiertem Her2-negativem Mammakarzinom eine genetische Untersuchung erhalten sollten. Eine statistische Auswertung zeigte, dass bei negativer Familienanamnese nur 30% der für die PARP-Inhibitortherapie in Frage kommenden Patienten eine *BRCA1/2*-Analyse erhalten (Abb.5).³⁴



Modifiziert nach: Lux MP et al. 314P Annals of Oncology (2020) 31 (suppl_4): S348-S395. 10.1016/annonc/annonc268

2

Abb.5 *BRCA*-Keimbahntestung abhängig von Rezeptorstatus und Familienanamnese⁵²

5.6.2 *PIK3CA*

Mutationen im *PIK3CA*-Gen liegen bei etwa 40% der Mammakarzinom-PatientInnen vor. Die Aktivierung des PI3-Kinase-Signalweges erfolgt durch Tyrosinkinaserzeptoren oder dem G-Protein Ras.⁵³

Mit der Zulassung von Alpelisib steht eine zielgerichtete Therapieoption für *PIK3CA*-Mutationsträgerinnen mit hormonrezeptorpositivem, HER2-negativem Mammakarzinom zur Verfügung. Alpelisib wirkt durch die spezifische Inhibition der alpha-Untereinheit der PI3-Kinase. In der Solar 1 Studie zeigte Alpelisib in Kombination mit Fulvestrant bei Patientinnen mit *PIK3CA*-Mutation einen Vorteil gegenüber der endokrinen Therapie mit Fulvestrant allein. In dieser Studie wurde eine Verdopplung der progressionsfreien Überlebenszeit von 5 auf 11 Monate gezeigt.³⁸

Im Patientenkollektiv der vorliegenden Arbeit ist Alpelisib nicht angewendet worden. Das Medikament wurde vom Hersteller (Novartis) zum 01.05.2021 vom deutschen Markt genommen. Als Grund für die Marktrücknahme nannte Novartis die gescheiterte Preisverhandlung mit den Krankenkassen.

Alpelisib ist zwar weiterhin in der EU zugelassen. Allerdings können deutsche Patienten den Wirkstoff nur als Individual-Import erhalten. Für die Kostenübernahme von der Krankenkasse ist eine Antragstellung notwendig.⁵⁴

5.6.3 *NTRK*-Genfusionen

Die TRK sind Rezeptortyrosinkinasen. Sie bilden eine Transmembranrezeptorfamilie mit 3 Mitgliedern: TRKA, TRKB und TRKC. Die Liganden der TRK sind Neurotrophine. Durch Ligandenbindung kommt es zur Homodimerisierung mit Aktivierung der Tyrosinkinase. Die Tyrosinkinase wiederum aktiviert verschiedene intrazelluläre Signalwege.⁵⁵

Der Nachweis von *NTRK*-Genfusionen ist eine Voraussetzung für den therapeutischen Einsatz von TRK-Inhibitoren. Seit der Zulassung 2020 stehen mit Entrectinib und Larotrectinib in Deutschland zwei TRK-Inhibitoren zur Verfügung.⁵⁶ In Studien haben die *NTRK*-Inhibitoren ein verbessertes Überleben gezeigt. Beim Mammakarzinom treten *NTRK*-Fusionen nur beim sekretorischen Typ auf. Daher ist die Testung nur bei diesem Krankheitsbild sinnvoll.³⁴

5.6.4 *TP53*

Das Protein P53 ist ein gut erforschtes DNA bindendes Protein und gilt als der bedeutendste Tumorsuppressor. Es wird auch als „Wächter des Genoms“ bezeichnet.⁵⁷ P53 spielt eine wichtige Rolle in der Regulierung der Expression von Genen, die in den Zellzyklusarrest, DNA – Reparatur, Seneszenz und Apoptose⁵⁸ aber auch Zellmotilität,- adhäsion, Antiangiogenese und Antimetastasierung⁵⁹ involviert sind. Pathogene Veränderungen des Proteins führen zu einer erhöhten Tumoranfälligkeit. Das für das Protein kodierende Gen *TP53* gilt als das am häufigsten mutierte Gen bei malignen Erkrankungen. In mehr als 50% aller humanen Tumoren liegt das *TP53*-Gen mutiert vor. Beim Mammakarzinom liegt die Mutationsrate bei ca. 35%. Inaktivierungen des *TP53*-Gens sind mit primärer endokriner Resistenz beim luminalen Tumor assoziiert.⁶⁰

Aufgrund der wichtigen Rolle von p53 bei der Tumorprogression, stellt es einen attraktiven Angriffspunkt für die Entwicklung zielgerichteter Therapieoptionen

dar.⁶¹

Die Reaktivierung von supprimierten Funktionen des intakten *TP53* könnte durch die Inhibierung von MDM erfolgen. MDM2 ist der Haupt-Down-Regulator von P53. Erhöhte Spiegel des Wildtyps induzieren tumorsuppressive Reaktionen.⁶¹

Andererseits könnte durch die selektive Depletion von mutiertem p53-Protein ein antitumoröser Effekt erzielt werden. Dies könnte mithilfe von siRNA oder shRNA geschehen, die die Tumorprogression supprimieren und zu einer Instabilität von *muTP53* führen.⁶¹

5.6.5 *AKT1, KRAS, AR*

AKT1 ist ein bekanntes Onkogen. *AKT1* kodiert eine Kinase, die an vielen verschiedenen Stoffwechselwegen, u.a. dem PI3K-Signalweg, beteiligt ist. Als zielgerichtete Therapieoption sind AKT-Inhibitoren (z.B. Capiversatib) beim Mamma- und Prostatakarzinom zugelassen.⁶²

KRAS ist ein monomeres G-Protein, das eine entscheidende Bedeutung in der Proliferation maligner Tumoren besitzt. Es spielt eine zentrale Rolle in Signaltransduktionswegen, die an der Regulierung von Wachstum und Differenzierung der Zelle beteiligt sind. Der Mutationstest von *KRAS* ist v.a. beim Dickdarmkarzinom etabliert. Bei *KRAS*-Mutation kommt eine individualisierte Therapie mit anti-EGFR-Antikörpern – Panitumumab und Cetuximab – infrage.⁶³

Das *AR*-Gen kodiert für den Androgenrezeptor. Assoziierte Erkrankungen sind zum Beispiel die Androgen Insensitivität und muskuläre Atrophien. Der Androgenrezeptor gewinnt als mögliches Therapieziel auch in der Behandlung des Mammakarzinoms zunehmend an Bedeutung. Bei Androgenrezeptor-exprimierenden tripelnegativen Mammakarzinomen scheint eine zielgerichtete Therapie mit Antiandrogenen wie Bicalutamid und Enzalutamid vielversprechend zu sein.⁶⁴

5.6.6 Stellenwert der TMB beim Mammakarzinom

Der TMB-Status (Tumor Mutational Burden) gibt Auskunft über die Menge an erworbenen Veränderungen im Erbgut im Tumorgewebe. Er ist definiert als die Zahl der somatischen Mutationen pro einer Million Basen.

Tumorzellen weisen Antigene auf, die es dem Immunsystem ermöglichen, sie als fremd zu erkennen und zu eliminieren. Eine hohe Tumormutationslast bedeutet, dass mit einer hohen Wahrscheinlichkeit tumorassoziierte Neoantigene gebildet werden, die vom Immunsystem als fremd erkannt und angegriffen werden. Die Bestimmung des TMB wird daher zunehmend genutzt, um Patienten zu identifizieren, die besonders von einer Immuntherapie profitieren könnten.²¹

Beim Mammakarzinom wird die TMB zurzeit als Biomarker diskutiert. Die Keynote-119-Studie hat bei PatientInnen mit fortgeschrittenem TNBC die Therapie mit Pembrolizumab, mit einer Chemotherapie verglichen. Die Ansprechraten unter Pembrolizumab war bei einer hohen TMB höher als bei PatientInnen mit einer niedrigen TMB. PatientInnen mit einer hohen TMB wiesen einen größeren Unterschied zwischen den beiden Behandlungsarmen auf als PatientInnen mit einer niedrigen TMB. Schlussfolgernd bleibt noch abzuwarten, wie und ob sich die TMB als Biomarker beim Mammakarzinom etablieren wird.⁶⁵

5.6.7 Stellenwert der MSI beim Mammakarzinom

Mikrosatellite sind kurze DNA-Sequenzen, die sich bis zu hunderte von Malen wiederholen und tausendfach im Genom verteilt sind. Bei Tumoren mit Mikrosatelliteninstabilität sind diese DNA-Abschnitte kürzer oder länger als im Normalgewebe. Dem zugrunde liegt ein Defekt der DNA-Mismatch-Reparatur.

Bei metastasierten soliden Tumoren mit MSI ist die Gabe vom PDL1-Inhibitor Pembrolizumab indiziert. In einer Studie zum Endometriumkarzinom hat sich die MSI erwiesen; Tumore mit MSI zeigten ein besseres Ansprechen auf eine PD-1-Blockade mit Pembrolizumab als MMR-profiziente Tumoren.⁶⁶

Auch wenn sich beim Mammakarzinom MMR-defiziente Tumoren nur sehr selten finden, konnte nachgewiesen werden, dass diese Karzinome besonders

gut auf eine tumoragnostische Therapie ansprechen. Eine Überprüfung der MSI wird daher empfohlen.⁶⁶

6. Ausblick

Für eine leitliniengemäße Therapie des Mammakarzinoms sind zunehmend molekularpathologische Analysen erforderlich. Mindestens der Nachweis von *PIK3CA*- und *BRCA1/2*-Mutationen werden für zugelassene zielgerichtete Therapie gefordert. Darüber hinaus ermöglicht die erweiterte molekulare Diagnostik weitere Informationen über das tumorbiologische Bild. So können mögliche Resistenzmechanismen und prädiktive Marker für in der klinischen Forschung befindliche Therapien ausgemacht werden.³⁴

Mit der Zunahme molekularpathologischer Analysen kommt der korrekten Interpretation eine wichtige Bedeutung zu. Die Einschätzung der Relevanz von detektierten Genvarianten stellt eine wachsende Herausforderung für die Molekularpathologie dar.³⁴

Die Beurteilung der klinischen Relevanz detektierter Varianten macht eine sorgfältige Recherche in Datenbanken erforderlich. Um diese zu vereinfachen, werden zunehmend Softwarelösungen wie MH Guide oder QC Interpret verwendet. Diese unterstützen die klinische Beurteilung und stellen die Aktualität der Berichte sicher. Sie erleichtern durch Automatisierung und Standardisierung der molekular-pathologischen Analysen die Interpretation der Befunde sowie die interdisziplinäre Zusammenarbeit.³⁴

7. Literaturverzeichnis

1. Kay Friedrichs, Heike Oellerich, Miriam Wessels Brustkrebs: Der Leitfaden durch das große Therapieangebot (2014)
2. Rojas K, Stuckey A. Breast Cancer Epidemiology and Risk Factors. Clin Obstet Gynecol. 2016;59(4):651-72.
3. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. 2018 Nov;68(6):394-424. doi: 10.3322/caac.21492. Epub 2018 Sep 12. Erratum in: CA Cancer J Clin. 2020 Jul;70(4):313. PMID: 30207593.
4. Kumar V., Abbas A, Aster J.: Robbins basic pathology. Female Genital System and Breast. 10. Aufl. Elsevier Philadelphia, S. 737 - 747 (2018)
5. Lebeau A, Kriegsmann M, Burandt E, Sinn H P: Invasive Mammakarzinome: Die aktuelle WHO-Klassifikation. Der Pathologe 1: 7 - 17 (2014)
6. Hortobagyi G N, Connolly J L, D'Orsi C J, Edge S B, Mittendorf E A, Rugo H S, Solin L J, Weaver D L, Winchester D J, Giuliano A E: AJCC Cancer Staging Manual. 8. Aufl, Springer, S. 22 - 89 (2017)
7. Sandra Klan: Inzidenz und Outcome von BRCA1-Mutationsträgerinnen im triple-negativen Kollektiv (2015)
8. Hahn M, Helms G, Siegmann KC, Krainick-strobel U, Wallwiener D, Gruber I Brustkrebsfrüherkennung und diagnostische Sicherung Frauenheilkunde up2date 2008; 2: 119-131
9. Perlet C, Artmann A, De Waal JC, Hellemann HP, Hölzel D, Imhoff K, Kessler M, Rjosk-Dendorfer D, Sittek H, Strauss A, Strigl R, Wolf C, Wolf M Mammographie-Screening, bildgebende und minimal-invasive Diagnostik In: „MANUAL Mammakarzinome, Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge“, Janni, W. (Hrsg.), W. Zuckschwerdt Verlag, München, 2007, 11. Auflage, 30 - 48

10. Scheich D, Artmann A, De Waal JC, Difliff C, Heywang-Köbrunner SH, Imhoff K, Perlet C, Rjosk D, Schmid R. Bildgebende und interventionelle Diagnostik In: MANUAL Mammakarzinome, Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge“, Bauerfeind, I. (Hrsg.), W. Zuckschwerdt Verlag, München, 2009, 12. Auflage, 31-53.
11. Bani MR., Breuel CH., Beckmann MW. Brusterhaltende Therapie oder Ablatio mammae - Operative Therapien bei Frauen mit primärem Mammakarzinom. Klinikarzt 2004; 33: 313-318.
12. Ott OJ., Strnad V. Nach brusterhaltender Operation, Mastektomie oder beim Rezidiv – Die Rolle der Strahlentherapie in der Behandlung des primären Mammakarzinoms Klinikarzt 2004; 33: 319 - 323
13. Hayes DF. 52 Tamoxifen: Dr. Jekyll and Mr. Hyde? J Natl Cancer Inst 2004; 96: 895-897
14. Lisboa, B Adjuvante endokrine Therapie in der Prämenopause 54 In: „Aktuelle Empfehlungen zur Therapie primärer und fortgeschrittener Mammakarzinome“, von Minckwitz G. (Hrsg.), W. Zuckschwerdt Verlag, München 2005, State of the Art Version 2005 Langfassung, 110 - 118
15. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. Lancet 2005; 365: 1687-1717.
16. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG) (2015): Aromatase inhibitors versus tamoxifen in early breast cancer: patient-level meta-analysis of the randomised trials. Lancet 386, 1341–1352
17. Interdisziplinäre S3-Leitlinie für die Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms, Langversion 4.4, Stand: Juni 2021: <https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/mammakarzinom/>
18. Press MF, Slamon DJ, Flom KJ, Park J, Zhou JY, Bernstein L. Evaluation of HER-2/neu gene amplification and overexpression: comparison of frequently used assay methods in a molecularly characterized cohort of breast cancer

specimens. J Clin Oncol 2002; 20: 3095-3105.

19. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, MCGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. Science 1987; 235: 177-182.

20. Arnheim, K. Weitere Errungenschaften in der Anti-HER2-Therapie. Im Fokus Onkologie 25, 45 (2022). <https://doi.org/10.1007/s15015-022-3877-0>

21. Zylka-Menhorn V. Tumormutationslast als Biomarker: Je mehr, umso besser, Dtsch Arztebl 2019; 116(35-36):20, Accessed March 17, 23

22. Edessa D, et al. Recent advances of cyclin-dependent kinases as potential therapeutic targets in HR+/HER2– metastatic breast cancer: a focus on ribociclib. Breast Cancer (Dove Med Press) 2017;9:567–79.

23. [https://www.krebsgesellschaft.de/onko-internetportal/basis-informationen-krebs/basis-informationen-krebs-allgemeine-informationen/wirkstoff-glossar/everolimus.html#:~:text=Everolimus%20\(Handelsname%20Afinitor%20%AE%2C%20Hersteller,%20%20Zellproliferation%20%20Angiogenese%20und%20Glukoseaufnahme](https://www.krebsgesellschaft.de/onko-internetportal/basis-informationen-krebs/basis-informationen-krebs-allgemeine-informationen/wirkstoff-glossar/everolimus.html#:~:text=Everolimus%20(Handelsname%20Afinitor%20%AE%2C%20Hersteller,%20%20Zellproliferation%20%20Angiogenese%20und%20Glukoseaufnahme) Accessed March 17, 23

24. Robson ME, Tung N, Conte P, Im SA, Senkus E, Xu B, Masuda N, Delaloge S, Li W, Armstrong A, Wu W, Goessl C, Runswick S, Domchek SM. OlympiAD final overall survival and tolerability results: Olaparib versus chemotherapy treatment of physician's choice in patients with a germline BRCA mutation and HER2-negative metastatic breast cancer. Ann Oncol. 2019 Apr 1;30(4):558-566. doi: 10.1093/annonc/mdz012. PMID: 30689707; PMCID: PMC6503629.

25. Reinhardt: Prävalenz von PIK3CA-Genmutationen beim Mammakarzinom, 2017

26. <https://www.krebsgesellschaft.de/onko-internetportal/basis-informationen-krebs/krebsarten/brustkrebs/therapie/molekularbiologische-therapie.html#:~:text=F%3BCr%20die%20Therapie%20bei%20fortgeschrittenem,Wachstumsfaktor%2DRezeptoren%20HER2%20und%20EGFR>. Accessed

July 5, 23

27. <https://www.universimed.com/ch/article/onkologie/therapie-des-metastasierten-mammakarzinoms-2123057#:~:text=In%20der%20metastasierten%20Situation%20wird,auch%20lokaltheraeutische%20Massnahmen%20sinnvoll%20sein>. Accessed July 5, 23
28. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell* 2011; 144: 646-74. 2.
29. Koboldt D et al. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2012; 490: 61-70.
30. Berger MF, Mardis ER. The emerging clinical relevance of genomics in cancer medicine. *Nat Rev Clin Oncol* 2018; 15: 353-65.
31. Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms, Version 4.3 (Mai 2020), verfügbar unter <https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/mammakarzinom/> Accessed September 29, 2020
32. Mammakarzinom der Frau - Onkopedia Leitlinien, (Januar 2018), verfügbar unter: <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/mammakarzinom-derfrau/@@guideline/html/index.html#ID0E6RAG> Accessed March 03, 2020
33. Mavaddat N, Peock S, Frost D, Ellis S, Platte R, Fineberg E, Evans DG, Izatt L, Eeles RA, Adlard J, Davidson R, Eccles D, Cole T, Cook J, Brewer C, Tischkowitz M, Douglas F, Hodgson S, Walker L, Porteous ME, Morrison PJ, Side LE, Kennedy MJ, Houghton C, Donaldson A, Rogers MT, Dorkins H, Miedzybrodzka Z, Gregory H, Eason J, Barwell J, McCann E, Murray A, Antoniou AC, Easton DF; EMBRACE. Cancer risks for *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers: results from prospective analysis of EMBRACE. *Journal of the National Cancer Institute*. 2013;105(11):812-22
34. Wild, P.J., Denkert, C. & Jackisch, C. Prädiktive molekulare Diagnostik beim Mammakarzinom. *Pathologie* 43, 388–398 (2022)

35. <https://flexikon.doccheck.com/de/Polymerase-Kettenreaktion> Accessed January 01, 23
36. https://flexikon.doccheck.com/de/Next_Generation_Sequencing Accessed July 05, 2023
37. <file:///C:/Users/Desktop/Downloads/dsellmann,+Eggermann+2018+NGS.pdf> Accessed July 05, 23
38. Meyer: Mammakarzinom: Alpelisib verlängert progressionsfreies Überleben bei *PIK3CA*-Mutation, Deutsches Ärzteblatt 2019
39. Synnott NC, Murray A, McGowan PM, Kiely M, Kiely PA, O'Donovan N, O'Connor DP, Gallagher WM, Crown J, Duffy MJ. Mutant p53: a novel target for the treatment of patients with triple-negative breast cancer? *Int J Cancer*. 2017 Jan 1;140(1):234-246. doi: 10.1002/ijc.30425. Epub 2016 Sep 24. PMID: 27615392.
40. Gills JJ, Dennis PA. Perifosine: update on a novel Akt inhibitor. *Curr Oncol Rep*. 2009 Mar;11(2):102-10. doi: 10.1007/s11912-009-0016-4. PMID: 19216841; PMCID: PMC6957247.
41. Li Z, Wang D, Lu J, Huang B, Wang Y, Dong M, Fan D, Li H, Gao Y, Hou P, Li M, Liu H, Pan ZQ, Zheng J, Bai J. Methylation of EZH2 by PRMT1 regulates its stability and promotes breast cancer metastasis. *Cell Death Differ*. 2020 Dec;27(12):3226-3242. doi: 10.1038/s41418-020-00615-9. Epub 2020 Sep 7. PMID: 32895488; PMCID: PMC7853151.
42. ESCAT Scale: Mateo et al. *Ann Oncol* 2018;29:1895–1902 Mod. Arnedos M. ESMO 2019, Special symposium – Where will future technologies take us in metastatic breast cancer?
43. Vortrag auf der Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Senologie 8.7.2023: „Interaktives Molekulares Tumorboard: Möglichkeiten und Grenzen - Personalisierte Medizin aus Sicht der OnkologInnen“ Prof. Dr Hans Tesch
44. <https://www.molecularhealth.com/de/loesungen/dataome/> Aceded July 5, 23

45. https://www.molecularhealth.com/wp-content/uploads/2021/04/MH-20-068-1_MH-Guide_Factsheet_DE.pdf Accessed December 01, 22
46. Apostolou P, Fostira F. Hereditary breast cancer: the era of new susceptibility genes. *Biomed Res Int.* 2013;2013:747318. doi: 10.1155/2013/747318. Epub 2013 Mar 21. PMID: 23586058; PMCID: PMC3618918
47. Stefanie Reil: Frequenz und Bedeutung von Mutationen in Brustkrebsrisikogenen beim fortgeschrittenen Mammakarzinom
48. Reinhardt K, Stückrath K, Hartung C, Kaufhold S, Uleer C, Hanf V, Lantsch T, Peschel S, John J, Pöhler M, Bauer M, Bürrig FK, Weigert E, Buchmann J, Kantelhardt EJ, Thomssen C, Vetter M. *PIK3CA*-mutations in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2022 Dec;196(3):483-493. doi: 10.1007/s10549-022-06637-w. Epub 2022 Oct 24. PMID: 36279023; PMCID: PMC9633529.
49. Pruthi S, Gostout BS, Lindor NM. Identification and Management of Women With *BRCA* Mutations or Hereditary Predisposition for Breast and Ovarian Cancer. *Mayo Clinic proceedings.* 2010;85(12):1111-20. 47.
50. Welcsh PL, King MC. *BRCA1* and *BRCA2* and the genetics of breast and ovarian cancer. *Human molecular genetics.* 2001;10(7):705-13.
51. Dossier zur Nutzenbewertung gemäß § 35a SGB V – Olaparib (Stand: 28.05.15)
52. Lux M et al. Das Mammakarzinom und die genetische *BRCA1/2*-Testung in der klinischen Routine: warum, wann und für wen? *Geburtsh Frauenheilk* 2023; 83: 310–321
53. <https://flexikon.doccheck.com/de/PI3K/Akt-Signalweg> Accessed December 14, 21
54. <https://www.dgho.de/aktuelles/presse/pressemeldungen/marktruecknahme-von-alpelisib-zulasten-von-brustkrebspatient-innen> Accessed December 20, 22

55. Stenzinger A, van Tilburg CM, Tabatabai G, Länger F, Graf N, Griesinger F, Heukamp LC, Hummel M, Klingebiel T, Hettmer S, Vokuhl C, Merkelbach-Bruse S, Overkamp F, Reichardt P, Scheer M, Weichert W, Westphalen CB, Bokemeyer C, Ivanyi P, Loges S, Schirmacher P, Wörmann B, Bielack S, Seufferlein TTW. Diagnostik und Therapie von Tumoren mit *NTRK*-Genfusionen [Diagnosis and therapy of tumors with *NTRK* gene fusion]. *Pathologe*. 2021 Feb;42(1):103-115. German. doi: 10.1007/s00292-020-00864-y. PMID: 33258061; PMCID: PMC7858552.
56. <https://www.dgho.de/publikationen/stellungnahmen/fruehe-nutzenbewertung/entrectinib/entrectinib-NTRK-dgho-gpoh-stellungnahme-20201222.pdf> Accessed February 01, 23
57. Lane D P: Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature*, 358: 15-16 (1992)
58. Vogelstein B, Lane D, Levine A J: Surfing the p53 network. *Nature*, 408: 307-310 (2000)
59. Harms K, Nozell S, Chen X: The common and distinct target genes of the p53 family transcription factors. *Cellular & Molecular Life Sciences*, 61: 822-842 (2004)
60. Mueller S, Grote I, Bartels S, Kandt L, Christgen H, Lehmann U, Gluz O, Graeser M, Kates R, Harbeck N, Kreipe H, Christgen M. p53 Expression in Luminal Breast Cancer Correlates With *TP53* Mutation and Primary Endocrine Resistance. *Mod Pathol*. 2023 Jan 11;36(4):100100. doi: 10.1016/j.modpat.2023.100100. Epub ahead of print. PMID: 36788081.
61. Hu, J., Cao, J., Topatana, W. et al. Targeting mutant p53 for cancer therapy: direct and indirect strategies. *J Hematol Oncol* 14, 157 (2021).
62. <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=AKT1> Accessed July 5, 23
63. Bayerisches Ärzteblatt 1-2/2010 Professor Dr. Thomas Kirchner Neues aus der Pathologie
64. <https://www.universimed.com/ch/article/onkologie/bedeutung-des->

androgenrezeptors-beim-mammakarzinom-2090124 Accessed July 5, 23

65. Tesch H et al. Update Mammakarzinom 2020 Teil 4 – Fortgeschrittenes Mammakarzinom Senologie 2021; 18: 49–57

66. Le DT et al.: N Engl J Med 2015; 372(26): 2509-20

Schriftliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel

Mutationsanalyse bei PatientInnen mit metastasiertem Mammakarzinom

am Centrum für Hämatologie und Onkologie Bethanien unter Betreuung und Anleitung von Prof. Dr. Hans Tesch mit Unterstützung durch Prof. Dr. Peter Wild ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe. Darüber hinaus versichere ich, nicht die Hilfe einer kommerziellen Promotionsvermittlung in Anspruch genommen zu haben.

Die vorliegende Arbeit wurde bisher nicht als Dissertation eingereicht.

(Ort, Datum)

(Unterschrift)



Publiziert unter der Creative Commons-Lizenz Namensnennung (CC BY) 4.0 International.
Published under a Creative Commons Attribution (CC BY) 4.0 International License.
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>