

**Aus der Universitätsklinik für Radioonkologie mit Poliklinik
Tübingen**

Abteilung Radioonkologie

Ärztlicher Direktor: Professor Dr. M. Bamberg

**Das lokal fortgeschrittene Mammakarzinom:
Bedeutung neuer und bekannter Prognosefaktoren für das
Auftreten von Lokalrezidiven**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen**

**vorgelegt von
Ilona Marion Jasmin Durst
aus
Böblingen**

2007

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. W. Budach

2. Berichterstatter: Professor Dr. B. Schmidt

I Inhaltsverzeichnis

I	Inhaltsverzeichnis	I
II	Abbildungsverzeichnis	IV
III	Tabellenverzeichnis	VI
1	Einleitung	1
1.1	Vorbemerkung	1
1.2	Historischer Überblick	2
1.3	Epidemiologie	4
1.4	Behandlungskonzepte	5
1.4.1	Brusterhaltende Therapie	5
1.4.2	Modifiziert radikale Mastektomie.....	5
1.4.3	Postmastektomie-Bestrahlung	6
1.4.4	Adjuvante Chemo- und Hormontherapie.....	7
1.4.5	Zeitliches Intervall zwischen Operation, Chemo- oder Hormontherapie und Bestrahlung.....	7
1.5	Fragestellung	8
2	Patientinnen und Methodik	10
2.1	Einschlusskriterien	10
2.2	Ausschlusskriterien	13
2.3	Adjuvante Systemtherapie	14
2.4	Die Bestrahlung	17
2.4.1	Bestrahlung der Thoraxwand.....	17
2.4.1.1	Thoraxwand-Bestrahlung.....	17
2.4.1.2	Aufsättigung des Tumorbettes	17
2.4.2	Bestrahlung der regionären Lymphknoten	18
2.4.2.1	Supra- und infraklavikuläre Bestrahlung	18
2.4.2.2	Parasternale Bestrahlung	18
2.4.3	Technik	20
2.5	Nebenwirkungen	22
2.6	Immunhistochemische Färbungen.....	23

2.6.1	Avidin-Biotin-Komplex-Methode.....	23
2.6.2	Verwendete Antikörper	24
2.6.3	Auswertung der gefärbten Präparate.....	25
2.6.3.1	Steroidrezeptoren	25
2.6.3.2	c-erb-B2 / Her-2/neu	26
2.6.3.3	p53.....	26
2.6.3.4	Ki-67/MIB1	27
2.6.3.5	Bcl-2.....	27
2.6.3.6	VEGF	27
2.7	Auswertung.....	28
3	Ergebnisse	29
3.1	Nachbeobachtungszeitraum	29
3.2	Alter	29
3.3	Lokalrezidive.....	30
3.4	Überleben	31
3.4.1	Fernmetastasenfreies Überleben.....	31
3.4.2	Krankheitsfreies und krankheitsspezifisches Überleben	31
3.4.3	Gesamtüberleben	32
3.5	Risikofaktorenanalyse.....	33
3.5.1	Univariate Auswertung der neuen Faktoren c-erb-B2, p53, Ki-67, Bcl-2 und VEGF	33
3.5.1.1	Univariate Auswertung der neuen Faktoren bezüglich der Lokalrezidivhäufigkeit.....	34
3.5.1.2	Univariate Auswertung der neuen Faktoren im Hinblick auf Gesamtüberleben, fernmetastasenfreies, krankheitsfreies und krankheitsspezifisches Überleben.....	34
3.5.2	Univariate Analyse der etablierten Prognosefaktoren.....	37
3.5.2.1	Univariate Analyse der etablierten Prognosefaktoren bezüglich der Lokalrezidivhäufigkeit (Lokalrezidiv als Erstmanifestation eines Rezidivs) ..	38
3.5.2.2	Univariate Analyse der etablierten Faktoren bezüglich der absoluten Lokalrezidivhäufigkeit.....	42
3.5.3	Multivariate Analyse.....	52

3.5.4	Univariate Analyse der Kombinationen von Faktoren bezüglich der lokalen Tumorkontrolle.....	53
3.5.4.1	Abhängigkeit der lokalen Tumorkontrolle von der Kombination neuer Faktoren mit dem Hormonrezeptorstatus	53
3.5.4.2	Abhängigkeit der lokalen Tumorkontrolle von der Kombination etablierter Prognosefaktoren mit dem Hormonrezeptorstatus.....	55
4	Diskussion	61
4.1	Strahlentherapie nach radikaler Mastektomie	61
4.1.1	Einfluss der Strahlentherapie nach modifiziert radikaler Mastektomie auf Lokalrezidivrisiko und Überleben	61
4.1.2	Prognostische Bedeutung von Brustwandrezidiven beim Mammakarzinom nach Postmastektomie-Bestrahlung.....	63
4.1.3	Indikationen für die Strahlentherapie der Brustwand nach modifiziert radikaler Mastektomie.....	64
4.2	Prognosefaktoren für das Mammakarzinom	67
4.3	Prognosefaktoren für das Auftreten eines Lokalrezidivs	67
4.4	C-erbB-2, p53, bcl-2, Ki-67 und VEGF: Neue Prognosefaktoren für das Mammakarzinom?	70
4.4.1	c-erbB-2 / Her-2/neu	70
4.4.2	p53.....	74
4.4.3	Bcl-2.....	79
4.4.4	Ki-67 / MIB1	83
4.4.5	VEGF	86
4.5	Schlussfolgerung	89
5	Zusammenfassung	91
IV	Literaturverzeichnis	VIII
V	Anhang	i

II Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Lymphabflussbahnen der Mamma.....	19
Abbildung 2: Level der Lymphadenektomie.....	20
Abbildung 3: Schematische Darstellung des geplanten Bestrahlungsfeldes (während der Bestrahlung werden die Arme höher über den Kopf genommen)	21
Abbildung 4: Schema Biotin-Avidin-Komplex-Methode	24
Abbildung 5: Alter in Jahren.....	29
Abbildung 6: Absolute lokale Tumorkontrolle.....	30
Abbildung 7: LC1 st	31
Abbildung 8: Gesamtüberleben	32
Abbildung 9: Krankheitsspezifisches Überleben in Abhängigkeit von Ki-67- Expression.....	37
Abbildung 10: LC1 st in Abhängigkeit von multizentrischem Tumorwachstum.....	38
Abbildung 11: LC1 st in Abhängigkeit von der Resektionsweite 1	39
Abbildung 12: LC1 st in Abhängigkeit von der Resektionsweite 2.....	40
Abbildung 13: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit von der TumorgroÙe ≥ /< 5 cm	42
Abbildung 14: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit vom Grading	43
Abbildung 15: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit von der Hormonrezeptorenexpression	44
Abbildung 16: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit von Lymphangiosis carcinomatosa	45
Abbildung 17: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit von Lymphangiosis cutis	46
Abbildung 18: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall ja/nein.....	47

Abbildung 19: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit von kapselüberschreitendem Lymphknotenbefall	48
Abbildung 20: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit von 0-3/> 3 befallenen Lymphknoten	49
Abbildung 21: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit vom Resektionsrand	50
Abbildung 22: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit von Hormonrezeptoren und p53	54
Abbildung 23: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit von Hormonrezeptoren und Ki-67	55
Abbildung 24: LC1 st in Abhängigkeit von Hormonrezeptoren und Resektionsweite .	56
Abbildung 25: LC1 st in Abhängigkeit von Hormonrezeptoren und Grading.....	57
Abbildung 26: LC1 st in Abhängigkeit von Hormonrezeptoren und Multizentrität	58
Abbildung 27: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit von Hormonrezeptorstatus und T-Klassifikation	59
Abbildung 28: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit von Hormonrezeptoren und Grading.....	60

III Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Merkmale der Patientinnen	11
Tabelle 2: Einteilung nach dem AJCC-Staging-System.....	13
Tabelle 3: Adjuvante Systemtherapie bei den prämenopausalen Patientinnen	15
Tabelle 4: Adjuvante Systemtherapie bei den postmenopausalen Patientinnen	16
Tabelle 5: Antikörper gegen ER, PGR, c-erb-B2, p53, Ki-67, Bcl-2 und VEGF	25
Tabelle 6: Anzahl der immunhistochemisch positiv/negativ bewerteten Patientinnen bezüglich der neuen Faktoren	33
Tabelle 7: Univariate Analyse der neuen Faktoren bezüglich der lokalen Tumorkontrolle.....	34
Tabelle 8: Univariate Auswertung der neuen Faktoren bezüglich des Überlebens.	36
Tabelle 9: Etablierte Prognosefaktoren ohne Vorhersagekraft bezüglich LC1 st	41
Tabelle 10: Etablierte Prognosefaktoren ohne Vorhersagekraft bezüglich der lokalen Tumorkontrolle	51
Tabelle 11: Multivariate Analyse bezüglich der lokalen Tumorkontrolle	52
Tabelle 12: Ergebnisse der adjuvanten Strahlentherapie nach Mastektomie in Abhängigkeit von befallenen axillären Lymphknoten	66
Tabelle 13: c-erb-B2-Überexpression in Bezug auf die Lokalrezidivrate	72
Tabelle 14: Studien zum prognostischen Wert von c-erbB-2 beim Mammakarzinom, Bestimmung mittels Immunhistochemie	73
Tabelle 15: p53-Mutation und die prognostische Aussagekraft für das Auftreten von Lokalrezidiven, Bestimmung mittels Immunhistochemie .	77
Tabelle 16: Studien zum prognostischen Wert von p53, Bestimmung mittels Immunhistochemie	78
Tabelle 17: Bcl-2 und die prognostische Aussagekraft für das Auftreten von Lokalrezidiven, Bestimmung mittels Immunhistochemie	81

Tabelle 18: Studien zum prognostischen Wert von Bcl-2, Bestimmung mittels Immunhistochemie	82
Tabelle 19: Studien zum prognostischen Wert von Ki-67/MIB1, Bestimmung mittels Immunhistochemie	85
Tabelle 20: Prognostische Bedeutung der VEGF-Bestimmung beim invasiven Mammakarzinom	88

1 Einleitung

1.1 Vorbemerkung

Das Mammakarzinom ist die häufigste maligne Systemerkrankung der Frau. In Deutschland erkrankt im Laufe ihres Lebens im Schnitt jede 9. Frau daran. Durch Früherkennung und verbesserte Therapien besteht jedoch heute in vielen Fällen die Möglichkeit einer Heilung.

Zum Verständnis der Mammakarzinomerkrankung und für die Auswahl und Beurteilung der verschiedenen therapeutischen Optionen wurden lange Zeit zwei verschiedene Modelle kontrovers diskutiert: Halsted, ein englischer Chirurg, postulierte 1894, dass das Mammakarzinom in erster Linie eine regionäre Erkrankung sei und somit lokale Therapiemaßnahmen entscheidend für eine Heilung seien [HAL 1894]. Fisher, ein amerikanischer Internist und Gynäkologe, dagegen beschrieb 1966 das Mammakarzinom schon im Frühstadium als eine disseminierte Erkrankung, daher sei eine systemische Therapie zur Beherrschung der Erkrankung unabdingbar [FIS 1966]. Heute teilt man zunehmend die Auffassung, die 1997 von Hellman in der Spektrums-Hypothese formuliert wurde. Diese besagt, dass das Mammakarzinom im Frühstadium - abhängig von der individuellen Tumorbiologie - eine lokoregionär begrenzte *oder* eine disseminierte Erkrankung sein kann [HEL 1997]. Damit ist eine Kombination sowohl aus lokaler als auch systemischer Therapie zur Tumorheilung notwendig.

Wenn eine interdisziplinäre Zusammenarbeit der verschiedenen Fachdisziplinen, von Gynäkologen, Chirurgen, Onkologen und Radioonkologen, stattfindet, kann durch Kombination von Operation, Systemtherapie und Strahlentherapie eine optimale lokale als auch systemische Kontrolle des Tumors erreicht werden. Für die Patientinnen werden so die bestmöglichen Überlebenschancen als auch Lebensqualität gewährleistet.

Bei ca. 50 000 Neuerkrankungen an Brustkrebs pro Jahr in Deutschland ist nach wie vor bei ca. 30% der Patientinnen mit lokal fortgeschrittenem Mammakarzinom die modifizierte radikale Mastektomie notwendig. Der Stellenwert der Strahlentherapie nach Mastektomie für das Überleben der Patientinnen wurde lange Zeit kontrovers

diskutiert. In älteren Analysen konnte zwar eine Verbesserung der lokalen Kontrolle, jedoch nicht des Gesamtüberlebens nachgewiesen werden. Neuere Studien zur Postmastektomie-Bestrahlung bei Risikopatientinnen für ein Lokalrezidiv zeigten ein *verbessertes Gesamtüberleben um 8-10%*! Das bedeutet, dass die lokale Kontrolle auch für das Gesamtüberleben der Patientinnen eine entscheidende Rolle spielt und die Strahlentherapie bei der Prävention eines lokalen Rezidivs nach Mastektomie an Bedeutung gewinnt. Ob alle Patientinnen von einer Postmastektomie-Bestrahlung gleichermaßen profitieren können, ist noch nicht hinreichend geklärt.

1.2 Historischer Überblick

Sowohl maligne als auch benigne Brustkrankungen sind der Menschheit schon seit mehreren tausend Jahren bekannt, wobei die älteste Dokumentation auf ca. 3000 Jahre vor Christus datiert ist und wahrscheinlich von dem ägyptischen Arzt Imhotep verfasst wurde. Die damaligen Behandlungsmethoden reichten von gar keiner Therapie über das Auftragen von Salben und Tinkturen bis hin zur Kauterisation und Amputation.

Im 2. Jahrhundert nach Christus war der römische Arzt Galen der Ansicht, dass Krebs eine systemische Erkrankung und somit durch eine Operation nicht heilbar sei. Im 18. Jahrhundert vertrat Valsalva (1704) die Theorie, dass sich Karzinome über das Lymphsystem in die Lymphknoten ausbreiten würden und dadurch Rezidive entstünden. Morgani (1769) und LeDrain (1857) waren der Meinung, dass es sich beim Mammakarzinom um eine lokalisierte Erkrankung handele, die bei rechtzeitiger Diagnosestellung heilbar sei.

Der erste Chirurg, der ein einheitliches Konzept zur operativen Behandlung des Mammakarzinoms entwickelte, war Jean Louis Petit (1674-1750), der schon damals die Bedeutung der weiten Exzision, der Quadrantektomie, der axillären Dissektion und der Beurteilung der Pektoralisfaszie erkannte.

Ausgehend von der Annahme, dass es sich beim Mammakarzinom um ein lokales Geschehen handelt und der Tumor nach Ausbreitung in der Brust schließlich die lokalen Lymphknoten erreicht, führte William S. Halsted 1882 die erste radikale Mastektomie durch. Hierbei wurden die Lymphknoten der Axilla komplett

ausgeräumt, die Mm. pectoralis major und minor entfernt und ein großer Hautbezirk reseziert. Für damalige Verhältnisse wurde eine exzellente lokale Tumorkontrolle mit einer 5-Jahres-Lokalrezidivrate von 6 % erreicht [HAL 1894].

Im deutschsprachigen Raum war Rotter Vorreiter dieser Methode, die er ab 1889 bei seinen Patientinnen durchführte [ROT 1896].

Mit B. und E.R. Fisher setzte sich in den 60er Jahren des 20. Jahrhunderts die Auffassung durch, dass das Mammakarzinom schon im Frühstadium eine disseminierte Erkrankung sein kann und die Lymphknoten keine Barriere gegen eine Ausbreitung im Körper darstellen. Vielmehr wurde der Befall der Lymphknoten als Indikator für eine systemische Ausbreitung angesehen. Die Lymphadenektomie hatte folglich nur prognostische und keine therapeutische Bedeutung (Tumorstaging) [FIS 1966, FIS 1989a].

Die Folge waren eine eingeschränkte Radikalität der Operation und das Erkennen der Bedeutung von adjuvanten Therapien, wie Chemo-, Hormon- und Strahlentherapie.

1948 entwickelte Patey eine eingeschränkte radikale Mastektomie mit Entfernung der Mamma, der Pektoralisfaszie unter Erhalt der Pektoralismuskulatur und der axillären Lymphknoten [PAT 1948]. Diese Form der Mastektomie, erst mit Entfernung der Lymphknoten in Level I, später auch in Level II und III, wird bis heute durchgeführt. Für kleine, lokal begrenzte Tumoren wurde die brusterhaltende Therapie mit nachfolgender Bestrahlung der Restbrust entwickelt. Bereits in den 1970er und 1980er Jahren wurde bei Patientinnen mit Brustkrebs in den frühen Stadien UICC I und II (pT1-2 pN0-1) die brusterhaltende Operation mit adjuvanter Strahlentherapie der Restbrust mit der modifiziert radikalen Mastektomie verglichen. In insgesamt sechs randomisierten Studien mit einer Nachbeobachtungszeit von 5 bis 15 Jahren zeigte sich kein signifikanter Unterschied im krankheitsfreien- und im Gesamtüberleben, die Lokalrezidivrate war noch gering erhöht [VER 1990, SAR 1984, FIS 1985, STR 1992, VDO 1992, BLI 1992].

1895 entdeckte der Würzburger Physiker Wilhelm Conrad Röntgen die später nach ihm benannten Röntgenstrahlen.

Mit der Entdeckung, dass nach längerer Exposition von Gewebe sonnenbrandähnliche Hautläsionen auftraten, die bis hin zu schwersten Verbrennungen reichten, wurde die zerstörerische Kraft der Strahlung erkannt. Dank dieser Erkenntnis und der Anwendung der Strahlen bei bestimmten Erkrankungen war die Strahlentherapie geboren.

Schon 1897 führte der Hamburger Chirurg Hermann Gocht die Bestrahlung von zwei bösartigen Brusttumoren mit Röntgenstrahlung durch [BRÖ 1996]. Die Erforschung der Tumorbiologie führte zu Erkenntnissen, wie man die Bestrahlung aggressiver gegenüber dem Tumorgewebe und schonender für die Patientin und das gesunde Gewebe gestalten kann.

Neben der Chirurgie wurde Anfang des 20. Jahrhunderts die Strahlentherapie als zweites effizientes lokoregionäres Behandlungskonzept für das Mammakarzinom etabliert.

Die kontroverse Diskussion über die Halsted- und die Fisher-Doktrin führte 1997 zur Spektrumhypothese von Hellmann, die besagt, dass das Mammakarzinom - abhängig von der individuellen Tumorbiologie - sowohl eine lokalisierte als auch eine disseminierte Erkrankung sein kann und somit lokoregionär *und* systemisch therapiert werden muss [HAL 1894, FIS 1966, HEL 1997].

1.3 Epidemiologie

Das Mammakarzinom ist das häufigste Karzinom der Frau. In Deutschland wird mit 50 000 Neuerkrankungen und ca. 17 000 Todesfällen pro Jahr gerechnet. Die Inzidenz der Mammakarzinomerkrankung steigt kontinuierlich mit dem Alter und ist besonders häufig in der weißen Bevölkerung in den USA, in England, Skandinavien und Deutschland zu beobachten.

Als Risikofaktoren gelten:

- vorausgegangenes Mammakarzinom der anderen Brust
- vorausgegangenes Carcinoma in situ der Brust oder eine Mastopathie Grad III (nach Prechtl)
- Brustkrebs bei der Mutter oder einer Schwester unter 40 Jahren

- Keimbahnmutation im BRCA-1-Gen oder BRCA-2-Gen bei 5 - 10 % der Mammakarzinompatientinnen
- hormoneller Einfluss (geringes Risiko für Frauen mit Erstschwangerschaft vor dem 20. Lebensjahr, vielen Kindern und langer Laktation oder frühzeitiger Ausschaltung der Ovarialfunktion)

1.4 Behandlungskonzepte

1.4.1 Brusterhaltende Therapie

Heute wird beim lokal begrenzten Mammakarzinom T1 oder kleinem T2 (< 3 cm) eine brusterhaltende Therapie mit nachfolgender Radiatio der Brust durchgeführt, allerdings nur dann, wenn eine Resektion im Gesunden möglich, der Tumor über der Muskulatur beweglich und die Haut nicht infiltriert ist.

Kontraindikationen für die brusterhaltende Therapie sind der Verbleib von Resttumor, Multizentrität oder eine ausgedehnte intraduktale Komponente bei invasiv duktalem Karzinom. Relative Kontraindikationen sind Alter < 35 Jahre, Multifokalität, retromamilläre oder zentrale Tumorlokalisation und sehr große oder ptotische Mammae.

Es konnte gezeigt werden, dass bei diesen kleinen Tumoren die brusterhaltende Therapie mit nachfolgender Radiatio ebenso gute Ergebnisse bezüglich des Gesamtüberlebens und der Rezidiventwicklung aufweist wie nach einer Mastektomie.

1.4.2 Modifiziert radikale Mastektomie

Sind bei Patientinnen die Voraussetzungen für ein brusterhaltendes Vorgehen nicht gegeben, so wird nach wie vor die modifiziert radikale Mastektomie durchgeführt.

Operatives Vorgehen bei der modifiziert radikalen Mastektomie:

Hierbei wird die Brust unter Mitnahme des Hautareals über dem Tumor spindelförmig umschnitten. Die Lymphadenektomie beinhaltet in der Regel die axillären Lymphknoten der Level I und II. Sind die Lymphknoten der unteren und mittleren Axilla karzinomatös befallen, ist es in besonderen Fällen sinnvoll, auch die apikalen Lymphknoten (Level III) zu entfernen. Infiltriert der Tumor die Pektoralisfaszie, so

sollte der Muskel, zumindest teilweise, mitreseziert werden. Stellt sich postoperativ heraus, dass weniger als 10 Lymphknoten histologisch untersucht werden konnten, so ist eine Nachresektion der Axilla durchzuführen.

1.4.3 Postmastektomie-Bestrahlung

Indikationen zur Brustwandbestrahlung:

Nach Mastektomie ist eine generelle Nachbestrahlung der Thoraxwand nicht indiziert. Die adjuvante Radiatio wird dann durchgeführt, wenn besondere Risikofaktoren für ein lokales Rezidiv vorliegen. Die folgenden Indikationen für die Brustwandbestrahlung nach Mastektomie wurden in einem interdisziplinären Konsensus im Jahr 2000 als gesichert festgelegt: T3-/T4-Karzinome, T2-Karzinome > 3 cm, multizentrisches Tumorwachstum, Lymphangiosis carcinomatosa und Hämangiosis carcinomatosa, Befall der Pektoralisfaszie oder Sicherheitsabstand < 0,5 cm, R1-/2-Resektion und mehr als 3 befallene axilläre Lymphknotenmetastasen [SAU 2000].

Indikationen zur Bestrahlung der regionären Lymphknoten

Ein Überlebensvorteil durch die Bestrahlung der regionären Lymphknoten konnte nicht gesichert nachgewiesen werden, dennoch wird bei folgenden Indikationen eine Lymphabflussbestrahlung durchgeführt:

- Supra-/infraklavikuläre Bestrahlung:

Die Bestrahlung der supra-/infraklavikulären Lymphknoten ist bei Befall der Achsellymphknoten indiziert [SAU 2000]. Ein besonders hohes Risiko für einen klinisch okkulten Befall des medialen sowie axillär apikalen Lymphabflussgebietes besteht zum Beispiel bei einem Tumorsitz bei 12 Uhr. Im amerikanischen Konsensus zur Postmastektomie-Bestrahlung wird die supra-/infraklavikuläre Bestrahlung bei Tumorbefall von ≥ 3 axillären Lymphknoten empfohlen [REC 2001].

- Parasternale Bestrahlung:

Als Indikationen für eine Bestrahlung der parasternalen Lymphknoten gelten metastatischer Befall der Achsellymphknoten, Tumorlokalisation in den beiden inneren Quadranten der Brust, zwischen den beiden oberen Quadranten oder

zentral, insbesondere wenn zusätzlich eine der folgenden Bedingungen erfüllt ist: T3-/T4-Karzinome, Multizentrität, ausgedehnte Lymphangiosis carcinomatosa oder Gefäßeinbrüche, Malignitätsgrad G3 oder Alter < 35 Jahre [SAU 2000].

Im amerikanischen Konsensus zur Postmastektomie-Bestrahlung von Recht et al. werden keine Empfehlungen für eine parasternale Lymphabflussbestrahlung ausgesprochen [REC 2001].

1.4.4 Adjuvante Chemo- und Hormontherapie

Am Universitätsklinikum Tübingen erfolgt die adjuvante medikamentöse Behandlung in Anlehnung an die Empfehlungen der Internationalen Konsensus Konferenzen in St. Gallen. Die Indikationen für eine adjuvante Hormon- oder Chemotherapie werden unabhängig von der Radiotherapie der Brustwand gestellt.

1.4.5 Zeitliches Intervall zwischen Operation, Chemo- oder Hormontherapie und Bestrahlung

Ist eine Chemotherapie indiziert, so waren die Empfehlungen bisher, unmittelbar nach der Operation damit zu beginnen und sie nicht zu Gunsten einer Bestrahlung zu verzögern, da es Hinweise gibt, dass systemische Mikrometastasen progredient werden können und die Fernmetastasierungsrate steigt. In der Langzeitauswertung der einzigen randomisierten Studie zu dieser Fragestellung [BEL 2005a/b] hatte die Sequenz von Chemo- und Radiotherapie jedoch keinen signifikanten Einfluss auf die Therapieergebnisse.

Auch die Strahlentherapie sollte grundsätzlich so bald wie möglich nach der Operation durchgeführt werden. Wird keine Chemotherapie vorgenommen, so sollte innerhalb von 6 Wochen, ansonsten nach spätestens 16 Wochen damit begonnen werden [DUB 1998, ELL 1996, LEO 1995, REC 1996, SAU 1996b, WAL 1996].

Nicht anthrazyklinhaltige Kombinationen können auch simultan oder im Sandwichverfahren mit der Strahlentherapie verabreicht werden.

Für die gleichzeitige Gabe von Tamoxifen während der Strahlentherapie besteht keine Kontraindikation, es gibt sogar Hinweise, dass Antiöstrogene die Wirkung ionisierender Strahlung auf das Tumorgewebe verstärken [OSB 1983, SAR 1994, VIL 1995, WAZ 1993].

1.5 Fragestellung

Die Notwendigkeit einer strahlentherapeutischen Behandlung nach modifiziert radikaler Mastektomie und Lymphadenektomie wurde lange Zeit kontrovers diskutiert.

In den letzten Jahren hat sich herauskristallisiert, dass das Lokalrezidiv nicht nur Indikator einer systemischen Erkrankung, sondern auch Quelle für Fernmetastasen sein kann und somit das Überleben der Patientinnen beeinflusst [HÖL 2001]. Zudem konnte in seit 1997 publizierten randomisierten Studien für Patientinnen (pT3/pT4 und/oder axilläre Lymphknotenmetastasierung), die nach Mastektomie bestrahlt wurden, ein Überlebensvorteil gegenüber den nicht bestrahlten Patientinnen nachgewiesen werden [OVE 1997, OVE 1999, RAG 1997]. Diese Ergebnisse betonen die Bedeutung der Bestrahlung nach Mastektomie.

Es wurde gezeigt, dass die Lokalrezidivrate durch die Postmastektomie-Bestrahlung bei Hochrisikopatientinnen von 30 % auf 10 % gesenkt wird. Dies bedeutet, dass bei 20 % der Patientinnen ein Lokalrezidiv als Erstmanifestation einer Rezidivkrankung verhindert werden kann.

Auch wenn das Risiko für das Auftreten eines Lokalrezidivs nach Postmastektomie-Bestrahlung aus den großen Phase-III-Studien bekannt ist, sollte weiter untersucht werden, ob alle Patientinnen gleichermaßen von der Bestrahlung profitieren?!

Es wird angenommen, dass Subgruppen von Patientinnen auch nach einer Standard-Postmastektomie-Bestrahlung ein immer noch hohes Risiko für das Auftreten von Lokalrezidiven haben.

Diese Arbeit befasst sich damit, diese Subgruppen von Patientinnen mit bestimmten Risikokonstellationen für das Auftreten von Lokalrezidiven nach Mastektomie und Strahlentherapie \pm Systemtherapie zu identifizieren. Durch Identifikation dieser Patientinnen vor Therapiebeginn wäre eine intensiviertere lokoregionäre Therapie möglich.

Für die Risikoanalyse wurden nicht nur etablierte Prognosefaktoren wie Alter, primäre Tumorcharakteristika, Nodalstatus und die Resektionsgrenzen untersucht, sondern auch die neuen Faktoren c-erb-B2, p53, Ki-67, Bcl-2 und VEGF, die

immunhistochemisch angefärbt wurden. Es wird angenommen, dass durch Nachweis dieser neuen Faktoren eine genauere Aussage in Bezug auf die Prognose der Mammakarzinomkrankung und das Ansprechen auf verschiedene Therapieformen gemacht werden kann. Hierfür wurden diese Faktoren auf einen Zusammenhang mit den Endpunkten Lokalrezidivrate, Gesamtüberleben, fernmetastasenfreies, krankheitsfreies und krankheitsspezifisches Überleben bei Patientinnen untersucht, die eine modifiziert radikale Mastektomie und eine postoperative Radatio erhalten hatten.

2 Patientinnen und Methodik

2.1 Einschlusskriterien

Die vorliegenden Daten wurden retrospektiv bei Patientinnen erhoben, die zwischen Januar 1990 und Dezember 1998 in der Radioonkologie der Universitätsklinik Tübingen mittels Elektronen-Rotations-Bestrahlung der Brustwand nach modifiziert radikaler Mastektomie behandelt wurden. Das Follow-up wurde durch Auswertung von Nachsorgeberichten erstellt, wobei die Nachsorge entweder an der Universitätsklinik Tübingen selbst durchgeführt oder durch Briefe der nachsorgenden Ärzte erfasst wurde. Falls von Patientinnen keine Briefe oder Berichte vorlagen, wurde gezielt beim behandelnden Hausarzt oder Facharzt für Gynäkologie nachgefragt.

Insgesamt 119 auswertbare Patientinnen konnten auf lokale Tumorkontrolle, fernmetastasenfreies, krankheitsfreies, krankheitsspezifisches Überleben und Gesamtüberleben sowie auf Muster beim Auftreten von Lokalrezidiven untersucht werden.

Um Hochrisiko-Patientinnen für das Auftreten eines Lokalrezidivs zu identifizieren, wurde zusätzlich eine Untergruppenanalyse durchgeführt. Hierfür wurden sowohl bekannte Prognosefaktoren wie Alter der Patientinnen, Charakteristika des Primärtumors, Multifokalität, Multizentrität und Differenzierungsgrad des Tumors, Nodalstatus, Resektionsweite, Vorliegen einer Lymphangiosis carcinomatosa oder Lymphangiosis cutis, Pektoralisinfiltration und die durchgeführten therapeutischen Maßnahmen ausgewertet als auch die Relevanz neuerer Prognosefaktoren untersucht. Auf histopathologischen Schnitten des Primärtumors, in Einzelfällen der axillären Lymphknoten (n = 9), wurden Östrogen- und Progesteronrezeptoren, c-erb-B2, p53, Ki-67, Bcl-2 und VEGF mit der Biotin-Avidin-Methode und den jeweils entsprechenden Antikörpern angefärbt. Die histopathologischen Färbungen wurden in einem „Central Review“ von der Verfasserin der Arbeit ausgewertet.

Da diese Färbungen retrospektiv an archiviertem Material vorgenommen wurden, konnten sie nur bei insgesamt 105 identifizierten Tumorpräparaten durchgeführt werden.

Das mediane Alter der Patientinnen bei Beginn der Therapie betrug 61 Jahre, wobei die Spanne von 27 bis 85 Jahren reichte.

Es wurden nur Patientinnen in die Studie aufgenommen, bei denen durch die gesamten standardisierten Staging-Methoden keine Fernmetastasierung ihres Mammakarzinoms nachgewiesen werden konnte. Alle in diese retrospektive Analyse aufgenommenen Patientinnen mit Mammakarzinom wiesen eines oder mehrere der in Tabelle 1 aufgeführten histopathologischen Merkmale auf.

Tabelle 1: Merkmale der Patientinnen

	pT1	pT2	pT2 (<3cm)*	pT3	pT4	Total
Multifokalität	11	25	10	14	37	87
Multizentrität	8	12	4	6	15	41
Lymphangiosis	5	24	9	15	42	86
Lymphangiosis cutis	0	1	0	1	45	47
negative Hormonrezeptoren	3	7	4	8	11	29
G2b, G3	5	15	4	7	28	55
"knapper" Resektionsrand	4	5	1	8	19	36
"positive" Resektionsränder	0	2	1	0	1	3
pN0	4	3	2	1	7	15
pN2/pN3	0 / 0	5 / 0	2 / 0	2 / 1	6 / 0	13 / 1
1-3 positive Lymphknoten	2	4	1	6	11	23
4-10 positive Lymphknoten	6	26	9	11	32	75
>10 positive Lymphknoten	2	10	2	9	14	35
Kapseldurchbruch	5	28	5	13	37	83
Alter <35 Jahre	0	4	2	2	1	7
Total	12	38	14	19	50	‡119

* Bei 7 Patientinnen pT2 war keine Tumorgroße bekannt. ‡ Unter Total genannte Zahlen entsprechen der Gesamtzahl an Patientinnen, die ein Merkmal aufweisen. Patientinnen können dabei mehrere Merkmale aufweisen.

Definition des Resektionsrandes:

Formal wird der Resektionsrand nach UICC in R0, R1 und R2 eingeteilt. R0 liegt bei histopathologischen freien Resektionsrändern vor, von R1 spricht man bei mikroskopischer Infiltration bis zum Resektionsrand und von R2 bei Verbleib eines makroskopisch sichtbaren Residualtumors.

In unserer Analyse sprach man von einer „weiten“ Resektion, wenn kein Tumorgewebe im Abstand von ≥ 1 cm an den Resektionsrändern des Tumorpräparates nachgewiesen werden konnte. Wurde histologisch Tumorgewebe innerhalb von einem Zentimeter am Resektionsrand des entfernten Tumorpräparates nachgewiesen, so wurde dies als „knappe“ Resektion bezeichnet. War der Tumor randbildend, wurde die Bezeichnung „positiver“ Resektionsrand gewählt.

Bei der primär modifizierten radikalen Mastektomie wurden „weite“ Resektionsränder bei 67 % der 119 Patientinnen erreicht, „knappe“ Resektionsränder bei 30 % der Patientinnen und ein „positiver“ Resektionsrand bei 3 % der Patientinnen.

Definition Multifokalität/Multizentrität:

In dieser Studie wurde unterschieden, ob der Primärtumor der Patientin multifokal, das heißt mit mehreren Herden in einem Quadranten, oder multizentrisch, das heißt mit mehr als einem Herd in verschiedenen Quadranten der Brust gefunden wurde. Die Einteilung in Multifokalität und Multizentrität existiert in der neuesten Nomenklatur der Pathologen nicht mehr.

In Tabelle 2 ist die Einteilung der an der Studie beteiligten Patientinnen nach dem AJCC-Staging-System dargestellt.

Tabelle 2: Einteilung nach dem AJCC-Staging-System

	n	%
Stage I T1 N0	4	3
Stage IIA T1 N1, T2 N0	11	9
Stage IIB T2 N1, T3 N0	32	27
Stage IIIA T1 N2, T2 N2, T3 N1, T3 N2	21	18
Stage IIIB T1 N3, T2 N3, T3 N3, T4 N0, T4 N1, T4 N2, T4 N3	51	43

Patientinnen in Stage I (T1 N0) und Stage IIA (T1 N1, T2 N0), die trotz frühem Tumorstadium mit einer Elektronen-Rotations-Bestrahlung nach modifizierter radikaler Mastektomie behandelt wurden, wiesen zusätzliche gesicherte oder relative Indikationen für die Bestrahlung auf. Hierzu gehörten multizentrisches Tumorwachstum, negativer Hormonrezeptorstatus, axillärer Lymphknotenbefall und/oder ein Primärtumor > 3cm. Davon waren 12 % der Patientinnen betroffen.

2.2 Ausschlusskriterien

Patientinnen, die aufgrund der Anatomie ihrer Brustwand nicht für die Elektronen-Rotations-Bestrahlung infrage kamen, erhielten eine tangentielle Photonenbestrahlung und wurden von der Studie ausgeschlossen. Hierzu gehörten Patientinnen, bei denen im Planungs-CT die Differenz zwischen minimaler und maximaler Thoraxwanddicke im Planungszielvolumen geringer als der Faktor 0,5 in mediolateraler oder kраниokaudaler Richtung war.

2.3 Adjuvante Systemtherapie

Abhängig von den bekannten prognostisch relevanten Faktoren für das Auftreten von Fernmetastasen, erhielten die Patientinnen zusätzlich zu Operation und Bestrahlung eine Chemo- und/oder Hormontherapie (Vgl. Tabelle 3 und 4).

Eine Chemotherapie wurde bei insgesamt 41 % der Patientinnen verabreicht. Von diesen erhielten 55 % eine Chemotherapie nach dem CMF-Schema (Cyclophosphamid/Methotrexat/5-Fluorouracil), 10 % das FEC/EC-Schema (5-Fluorouracil/Epirubicin/Cyclophosphamid) und 14 % eine Mono-Chemotherapie mit Epirubicin.

Insgesamt 8 % der Patientinnen erhielten eine Hochdosis-Chemotherapie, weitere 8 % eine neoadjuvante Chemotherapie.

20 % der chemotherapierten Patientinnen erhielten zusätzlich eine adjuvante Hormontherapie, eine alleinige adjuvante Hormontherapie wurde bei 48 % aller Patientinnen durchgeführt.

Die Hormontherapie erfolgte zu 94 % mit Tamoxifen 20 mg oder 30 mg p. o. pro Tag, in 4 % mit Goserelin 3,5 mg s. c. alle 4 Wochen, die Patientinnen erhielten diese Medikamente in der Regel 5 Jahre lang bis zum Abschluss der Therapie.

Als Hormonrezeptor-positiv wurde ein immunhistochemischer Score zwischen 4 und 12 gewertet, als Hormonrezeptor-negativ ein Score von 0 bis 3.

Tabelle 3: Adjuvante Systemtherapie bei den prämenopausalen Patientinnen

	prämenopausale Patientinnen (n = 25*)								
	ER und PR positiv ⁰ (n = 12)			ER oder PR positiv ⁰ (n = 5)			ER und PR negativ ⁰ (n = 8)		
	CHX und HT	CHX	HT	CHX und HT	CHX	HT	CHX und HT	CHX	HT
pT1/2 N0	0/2	2/2	0/2	0/0	0/0	0/0	0/2	2/2	0/2
pT1/2, 1-3 befallene LK	0/1	1/1	0/1	1/2	1/2	0/2	0/1	1/1	0/1
pT1/2, >3 befallene LK	1/6	5/6	0/6	1/1	0/1	0/1	0/3	2/3	0/3
pT3/4 N0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
pT3/4, 1-3 befallene LK	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
pT3/4, >3 befallene LK	1/3	1/3	1/3	0/2	0/2	2/2	0/2	2/2	0/2

HR = Hormonrezeptoren; ER = Östrogenrezeptoren; PR = Progesteronrezeptoren; CHX = Chemotherapie; HT = Hormontherapie;
 LK = Lymphknoten; ⁰ Hormonrezeptoren wurden ab einem immunreaktiven Score von 4 und höher als positiv gewertet.

Tabelle 4: Adjuvante Systemtherapie bei den postmenopausalen Patientinnen

	postmenopausale Patientinnen (n = 80*)								
	ER und PR positiv ^o (n = 36)			Mindestens ein HR positiv ^o (n = 29)			ER und PR negativ ^o (n = 15)		
	CHX und HT	CHX	HT	CHX und HT	CHX	HT	CHX und HT	CHX	HT
pT1/2 N0	0/0	0/0	0/0	0/4	0/4	3/4	0/1	0/1	1/1
pT1/2, 1-3 befallene LK	0/4	1/4	2/4	0/2	0/2	2/2	0/1	1/1	0/1
pT1/2, > 3 befallene LK	1/10	1/10	8/10	0/8	0/8	7/8	1/9	4/9	2/9
pT3/4 N0	0/5	0/5	4/5	0/1	0/1	0/1	0/1	1/1	0/1
pT3/4, 1-3 befallene LK	0/5	0/5	4/5	0/6	0/6	5/6	0/0	0/0	0/0
pT3/4, >3 befallene LK	1/12	2/12	9/12	1/8	2/8	4/8	0/3	2/3	1/3

HR = Hormonrezeptoren; ER = Östrogenrezeptoren; PR = Progesteronrezeptoren; CHX = Chemotherapie; HT = Hormontherapie;
 LK = Lymphknoten, ^o Hormonrezeptoren wurden ab einem immunreaktiven Score von 4 und höher als positiv gewertet; * die Gesamtzahl von 105 Patientinnen ergibt sich aus der Zahl an immunhistochemisch bestimmaren Hormonrezeptoren.

2.4 Die Bestrahlung

2.4.1 Bestrahlung der Thoraxwand

Im angegebenen Zeitraum wurde bei 119 Patientinnen die kurativ intendierte Bestrahlung der Thoraxwand als Elektronen-Rotations-Bestrahlung durchgeführt.

2.4.1.1 Thoraxwand-Bestrahlung

Die Bestrahlung erfolgte mit täglichen Dosen von 2 Gy, 5-mal pro Woche, oder 2,5 Gy, 4-mal pro Woche, bis zu einer Gesamtdosis von 50 Gy. Sie wurde zwischen dem 28. und 306. Tag (Median 61. Tag) nach dem operativen Eingriff begonnen, und bei keiner der Patientinnen musste die geplante Gesamtbehandlungszeit von 5 Wochen um mehr als 5 Tage verlängert werden.

Für die Elektronen-Rotations-Bestrahlung der Thoraxwand wurden nur Patientinnen mit einer durchschnittlichen Dicke der Thoraxwand (Abstand Haut-Lunge) zwischen 1 cm und 4 cm ausgewählt. Ausgeschlossen wurden Patientinnen, bei denen nach Durchführung der Mastektomie in der Bestrahlungsplanung mit CT eine Differenz um den Faktor $< 0,5$ zwischen minimaler und maximaler Dicke der Thoraxwand vorlag. Nach Definition des Planungszielvolumens im Planungssystem wurden, in Abhängigkeit vom geringsten Thoraxwanddurchmesser, von Unterschieden zwischen kranialer und kaudaler Ausdehnung und der Eindringtiefe von postoperativ verbliebenem Tumorgewebe, Elektronenenergien zwischen 4 und 10 MeV verwendet.

Das Planungszielvolumen erfasste die gesamten Operationsnarben der Thoraxwand sowie vorhandene Drainageeinstichstellen (Vgl. Abbildung 3).

2.4.1.2 Aufsättigung des Tumorbettes

Eine zusätzliche Aufsättigung des Tumorbettes erfolgte in Abhängigkeit vom histopathologischen Befund des Operationspräparates sowie von der Ausdehnung der durchgeführten Operation.

Bei insgesamt 19 % aller Patientinnen wurde zusätzlich ein Boost auf das Tumorbett mit einer Gesamtdosis von 10 Gy geplant. Bei diesen Patientinnen lag eine „knappe“ Resektion oder ein „positiver“ Resektionsrand vor. Bei 83 % dieser Patientinnen wurden die geplanten 10 Gy auf das Tumorbett appliziert, vier Patientinnen erhielten eine reduzierte Dosis von 4 Gy, 6 Gy, 7,5 Gy oder 9 Gy.

Die Aufsättigung erfolgte über ein Elektronen-Stehfeld auf das Tumorbett mit 5 cm Sicherheitsabstand in kranialer, kaudaler, medialer und lateraler Ausdehnung.

2.4.2 Bestrahlung der regionären Lymphknoten

2.4.2.1 Supra- und infraklavikuläre Bestrahlung

Die Indikation für supra- und infraklavikuläre Bestrahlung war bei 80 % aller Patientinnen gegeben. Bei ihnen lag ein ausgedehnter Lymphknotenbefall vor, das bedeutet es waren > 3 axilläre Lymphknoten befallen, die Metastasen hatten die Lymphknotenkapsel durchbrochen (pN_{biii}) oder wurden in Level II oder Level III des Lymphabflussgebietes gefunden (Vgl. Abbildung 1 und 2).

Insgesamt wurde die Bestrahlung bis zu einer Gesamtdosis von 45 Gy (Einzeldosis 2,5 Gy, 4-mal pro Woche) bei 53 %, 50 Gy (Einzeldosis 2 Gy, 5-mal pro Woche) bei 4 % oder 50,4 Gy (Einzeldosis 1,8 Gy, 4-mal pro Woche) bei 43 % der supra-/infraklavikulär bestrahlten Patientinnen appliziert. 4 % der supra-/infraklavikulär bestrahlten Patientinnen erhielten eine höhere Dosis von 54 Gy (Einzeldosis 1,8 Gy, 5-mal pro Woche), da bei ihnen eine ausgeprägte Lymphangiosis carcinomatosa diagnostiziert wurde.

Der Einschluss der Axilla in das supra-/infraklavikuläre Bestrahlungsfeld erfolgte abhängig von der Ausdehnung der Lymphadenektomie, das heißt sie erfolgte, wenn:

- < 7 Lymphknoten entfernt wurden. Dies betraf 3 % aller Patientinnen;
- die Lymphknotenmetastasen miteinander verbacken oder an umliegenden Strukturen fixiert waren (= N₂). Davon waren 11 % aller Patientinnen betroffen;
- wenn vom Verbleib eines Resttumors ausgegangen werden musste, was bei 3 % aller Patientinnen der Fall war.

2.4.2.2 Parasternale Bestrahlung

Bei medialer oder zentraler Lage des Primärtumors in der Brust und ausgedehntem Lymphknotenbefall > 3 Lymphknotenmetastasen oder einem Tumor im Stadium T₃ oder T₄ wurde eine Bestrahlung der ipsilateralen parasternalen Lymphknoten (Vgl. Abbildung 1) erwogen und bei 63 % aller Patientinnen (n = 75) durchgeführt. Die parasternale Bestrahlung erfolgte bei 66 % der Patientinnen mit täglichen Dosen von 2 Gy, 5-mal pro Woche, bis zu einer Gesamtdosis von 50 Gy, bei 31 % mit Einzeldosen von 1,8 Gy, 5-mal pro Woche, bis zu einer Gesamtdosis von 50,4 Gy. Bei je einer Patientin wurde eine Gesamtdosis von 45 Gy (Einzeldosis 2,5 Gy, 4-mal pro Woche) und 47,5 Gy (Einzeldosis

2,5 Gy, 4-mal pro Woche) verabreicht, bei einer Patientin wurde die Behandlung nach der Applikation von 10,8 Gy abgebrochen.

Die ipsilateralen Lymphknoten der A. mammaria interna wurden durch ein separates anteriores Feld mit gemischter Elektronen- und Photonenstrahlung bestrahlt, wobei Elektronen bis 30 Gy Zielvolumendosis, danach Photonen bis 20 Gy Zielvolumendosis bis zu einer Gesamtdosis von 50 Gy verabreicht wurden. Das klinische Zielvolumen umfasste die Lymphknoten der ersten vier Interkostalräume.

Die Überlappung des Elektronen-Rotations-Feldes in das Parasternalfeld wurde mit Blei abgeschirmt.

Da bei der Planung des Bestrahlungsfeldes von Thoraxwand, supraclaviculären Lymphknoten und der parasternalen Lymphknoten der A. mammaria interna keine Lücken auf der Haut gelassen wurden, besteht die Möglichkeit, dass im subkutanen Gewebe durch Divergenz der Strahlung kleinere Überlappungen der Bestrahlungsfelder vorgelegen haben.

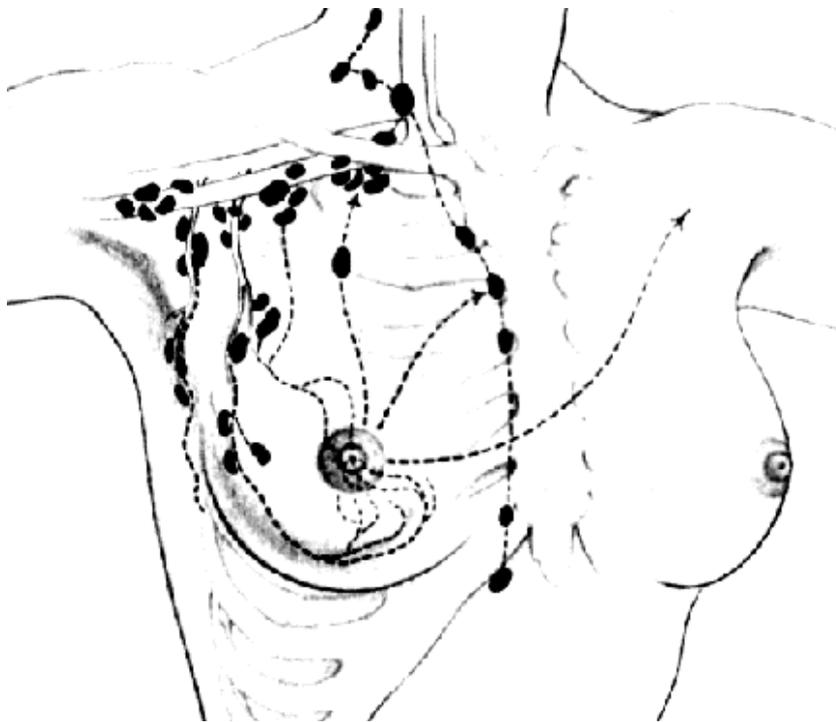
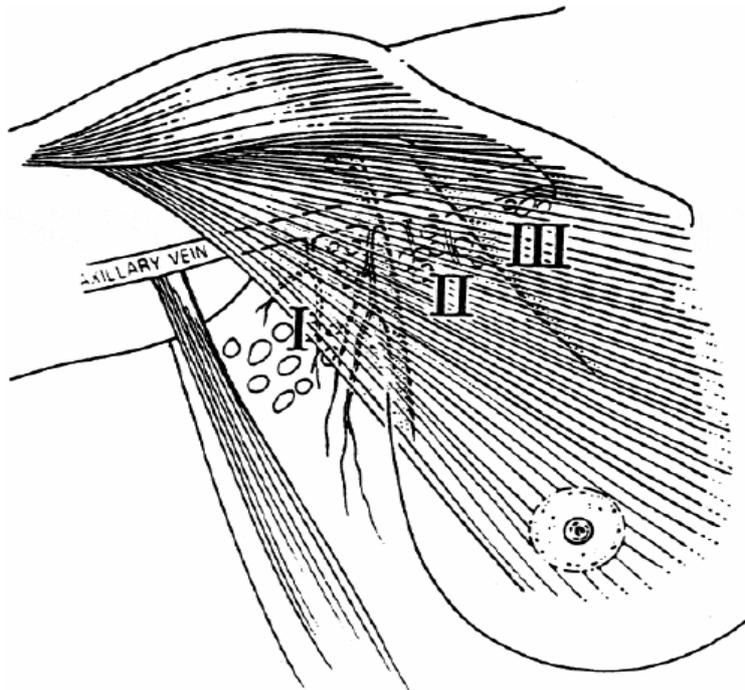


Abbildung 1: Lymphabflussbahnen der Mamma



- Level I: Lymphknoten lateral des M. pectoralis minor
- Level II: Lymphknoten unter dem M. pectoralis minor
- Level III: Lymphknoten medial des M. pectoralis minor

Abbildung 2: Level der Lymphadenektomie

2.4.3 Technik

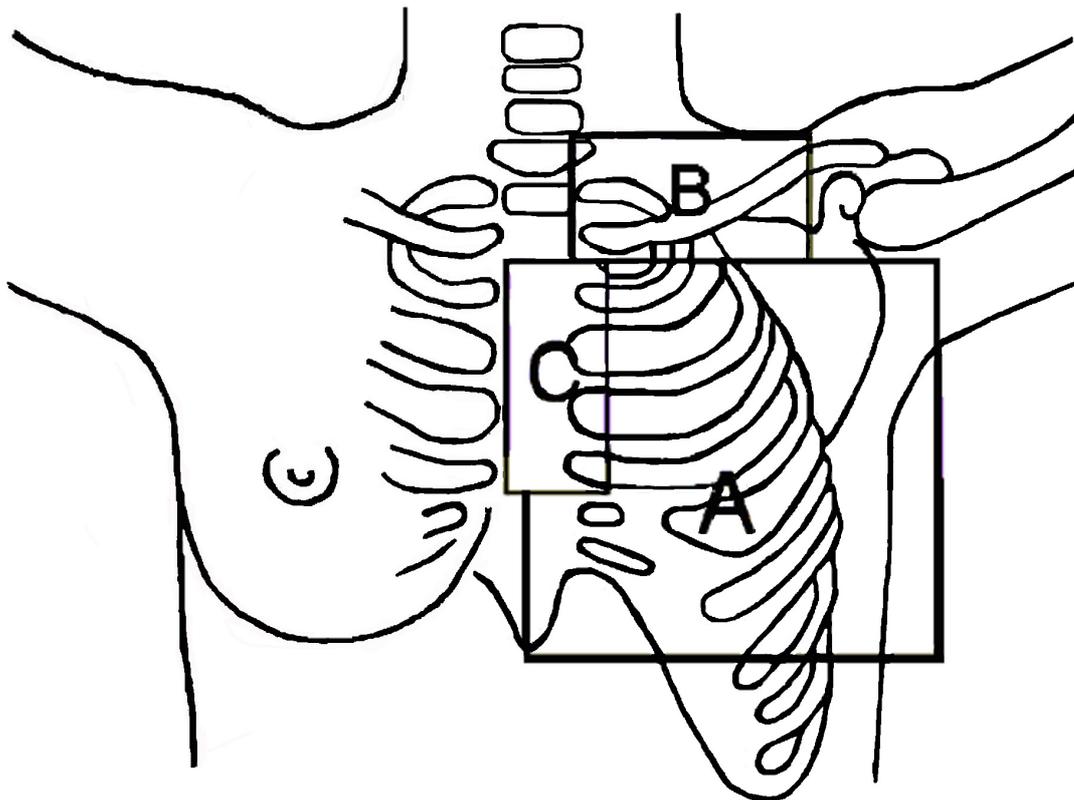
Für die Durchführung der Elektronen-Rotations-Bestrahlung wurde ein Elektronenapplikator von 6×20 cm verwendet. Kompensatoren, die die Berücksichtigung der unterschiedlichen Dicke der Thoraxwand ermöglichen, kamen nicht zum Einsatz. Es wurde aber durch geeignete Lagerung der Patientinnen und durch Neigung des Bestrahlungstisches in die schiefe Ebene eine möglichst horizontale Lage des Brustkorbs im Bereich des Sternums sichergestellt.

Das Isozentrum wurde so kalkuliert, dass eine gleichmäßige Entfernung von 6 bis 16 cm zwischen rotierendem Applikatorrahmen und Brustwand eingehalten werden konnte. Um auch an den Feldgrenzen eine Dosis von mindestens 80 % sicherzustellen, wurde, abhängig von der Entfernung zwischen Applikator und Brustwand, das Bestrahlungsfeld nach medial und lateral ausgedehnt. Die obere Feldgrenze stellte das Jugulum dar, die

untere Feldgrenze das Niveau 1 cm unter der kontralateralen Brust, die laterale Feldgrenze wurde durch den Processus coracoideus gebildet, und die mediale Feldgrenze wurde in Sternummitte unter Einschluss der Operationsnarbe gezogen (Vgl. Abbildung 3).

Die Tiefe des Planungszielvolumens (80 % Isodose) wurde durch die Wahl der Elektronenenergien erfasst. Dabei wurde die mittlere Dicke der Thoraxwand in medialer, lateraler, kranialer und kaudaler Ausdehnung berücksichtigt.

Messungen an einem muskeläquivalenten, zylindrischen PMMA Phantom machten es möglich, die Monitoreinheiten pro Grad des rotierenden Applikators auszurechnen. Für die Planung der Isodosen wurde anfänglich das kommerzielle Planungssystem OSS von Philips, später das Helax-Planungssystem verwendet [CHR 1996, EKH 1992, PFÄ 1990].



- A: Bestrahlungsfeld der Thoraxwand
- B: Supra-/infraklavikuläres Bestrahlungsfeld
- C: Parasternales Bestrahlungsfeld

Abbildung 3: Schematische Darstellung des geplanten Bestrahlungsfeldes
(während der Bestrahlung werden die Arme höher über den Kopf genommen)

2.5 Nebenwirkungen

Akute Nebenwirkungen der Bestrahlung wurden wöchentlich und am Ende des Bestrahlungszeitraumes dokumentiert und in unsere retrospektive Analyse aufgenommen. Da Nebenwirkungen Grad I und II im Gegensatz zu Nebenwirkungen Grad III und IV seltener dokumentiert wurden, kann eine systematische Unterschätzung der leichteren Nebenwirkungen nicht ausgeschlossen werden. Spätnebenwirkungen der Bestrahlung wurden durch regelmäßige Nachsorgeuntersuchungen erfasst. Der Gesundheitszustand der Patientinnen, die sich nicht einer regelmäßigen Nachsorge in der Radioonkologischen Klinik des Universitätsklinikums Stuttgart unterzogen, wurden durch standardisierte, hierfür entworfene Fragebögen festgehalten (Vgl. Anhang 1).

2.6 Immunhistochemische Färbungen

Die immunhistochemischen Färbungen der etablierten Prognosefaktoren Östrogen- und Progesteronrezeptoren sowie die Anfärbungen auf die verschiedenen anderen Faktoren c-erb-B2, p53, Ki-67, Bcl-2 und VEGF wurden mit der Avidin-Biotin-Komplex-Methode und dem jeweiligen Antikörper durchgeführt. Da archiviertes Material angefärbt wurde, konnten insgesamt nur 105 Tumoren der Mammakarzinom-Patientinnen gefunden, angefärbt und auch ausgewertet werden.

Alle Färbungen wurden im Institut für Pathologie der Universität Tübingen gefertigt und dort, um eventuelle Unregelmäßigkeiten bei der Einschätzung des prozentualen Anteils gefärbter Zellen und der Färbeintensität zu vermeiden, vom Verfasser unter dem Mikroskop bewertet.

2.6.1 Avidin-Biotin-Komplex-Methode

Bei der Avidin-Biotin-Komplex-(ABC)-Methode nach Hsu et al. (1981) wird die starke Affinität von Avidin für Biotin genutzt, um zelluläre Antigene mit entsprechenden Antikörpern von der Maus (monoklonal) bzw. vom Kaninchen (polyklonal) darzustellen [HSU 1981] (Vgl. Abbildung 4).

Die Gewebsschnitte wurden zunächst in einer absteigenden Xylol-Alkohol-Tris-Puffer-Reihe entparaffiniert. Vor dem Auftragen der primären Antikörper wurde die Aktivität der endogenen Peroxidase mit einer Wasserstoffperoxid-Methanol-Lösung unterdrückt und eventuell vorhandene unspezifische Bindungsstellen für den sekundären Antikörper mit 1 : 5 verdünntem Normalserum blockiert. Der sekundäre Antikörper war an seinem Fc-Teil mit Biotinmolekülen konjugiert. Dieser biotinylierte Sekundärantikörper erkennt den Primärantikörper und bindet an diesen. In einem weiteren Schritt wurde nun ein Komplex aus Avidin und Biotin (ABC-Komplex) (Dakopatts, Hamburg, BRD), an dem sich Meerrettichperoxidase befand, angeboten. Der ABC-Komplex lagerte sich mit seinen freien Bindungsstellen an den biotinylierten Sekundärantikörper an, und die Peroxidase konnte mit einer Farbreaktion im Präparat sichtbar gemacht werden. Hierfür wurden die Schnittpräparate kurz mit einer 3.3-Diaminobenzidintetrahydrochlorid (DAB; Sigma GmbH Deisenhofen, BRD) in einer verdünnten Wasserstoffperoxid-Lösung inkubiert. Dabei setzte die Meerrettichperoxidase des ABC-Komplexes das DAB zu einem braunen Farbstoff um. Zwischen den einzelnen Schritten wurden die Schnitte wiederholt mit Tris-Puffer gespült. Die anschließende Kernfärbung mit Harris-Hämatoxylin erlaubte eine sichere Identifikation

der Kernstrukturen und ermöglichte so die zelluläre Zuordnung der immunhistochemischen Anfärbung. Nach der Dehydrierung der Schnitte in einer aufsteigenden Alkohol-Xylol-Reihe erfolgte die Eindeckung in Eukitt (Kindler, Freiburg, BRD).

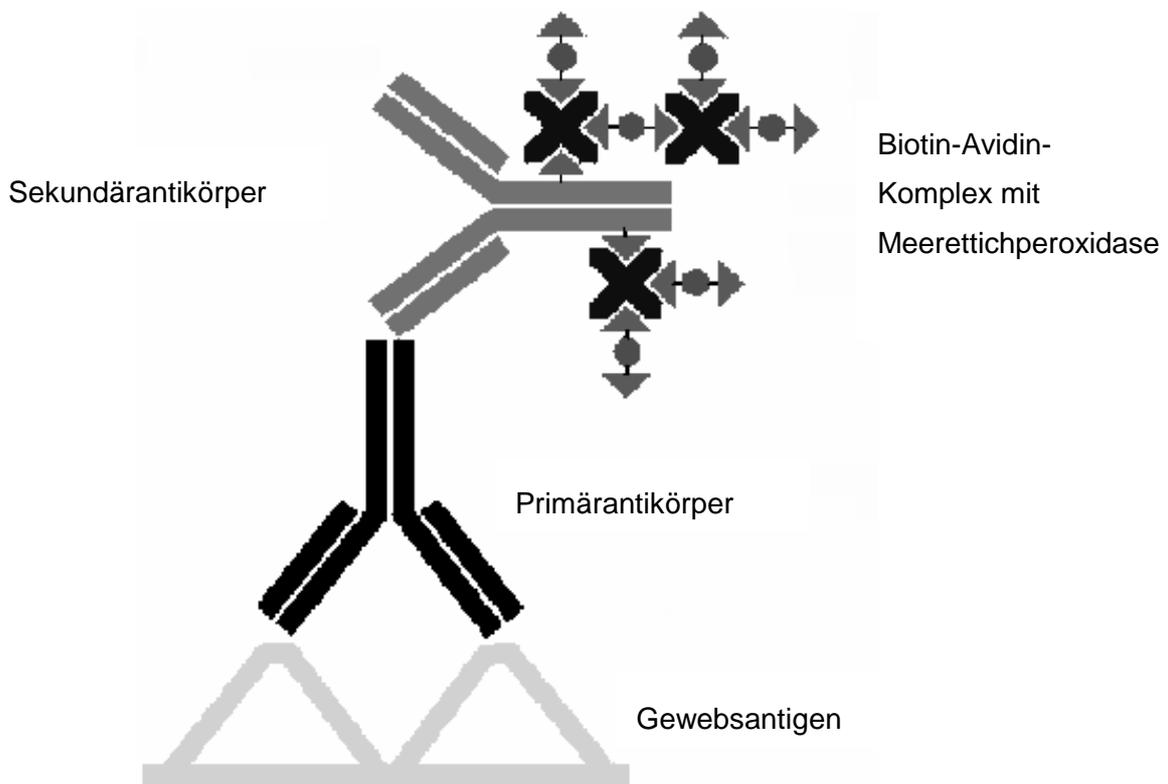


Abbildung 4: Schema Biotin-Avidin-Komplex-Methode

2.6.2 Verwendete Antikörper

Die Primärantikörper wurden jeweils in der vom Hersteller empfohlenen oder in der in der Routinediagnostik üblichen Verdünnung eingesetzt. Die verwendeten Antikörper, ihre Spezifität und die angewandten Verdünnungen sowie die Bezugsquellen wurden in Tabelle 5 zusammengefasst.

Bei den meisten der verwendeten Antikörper wurden zur Erhöhung der Sensitivität die Schnitte nach Rehydrierung 3 mal 5 Minuten in 0,01 M Citratpuffer in einem Mikrowellenherd bei 750 Watt thermisch vorbehandelt. Bei der Anfärbung mit Anti-VEGF erfolgte eine Vorbehandlung mit Protease in 0,5 % Konzentration für 7 Minuten bei 37°C.

Tabelle 5: Antikörper gegen ER, PGR, c-erb-B2, p53, Ki-67, Bcl-2 und VEGF

Antikörper	Klonalität	Verdünnung	Vorbehandlung	Quelle
NCL-ER-6F11	m	1:100	Mikrowelle	1
NCL-PGR-312	m	1:300	Mikrowelle	1
Anti-Human c-erb-B-2 Oncoprotein	p	1:2000	Mikrowelle	2
NCL-p53-DO7	m	1:100	Mikrowelle	1
Anti-Human Ki-67 Antigen	m	1:200	Mikrowelle	2
Anti-Human BCL2 Oncoprotein	m	1:200	Mikrowelle	2
Anti-VEGF	p	1:20	Protease 0,5 %	3

ER = Östrogenrezeptor, PGR = Progesteronrezeptor;

Quelle 1: Novocastra Laboratories Ltd, Großbritannien; Quelle 2: DAKO A/S, Dänemark; Quelle 3:

Oncogene Research Products, Cambridge, MA, USA

2.6.3 Auswertung der gefärbten Präparate

Die immunhistochemisch angefärbten Schnittpräparate wurden unter dem Mikroskop auf den prozentualen Anteil der angefärbten Tumorzellen und auf ihre Färbeintensität untersucht.

2.6.3.1 Steroidrezeptoren

Die Anfärbung der Östrogen- und Progesteronrezeptoren als prognostische und prädiktive Faktoren für das Ansprechen auf antihormonelle Therapie wurde mit monoklonalen Antikörpern durchgeführt. Die Kernfärbung der Tumorzellen wurde nach dem Immunreaktiven Score (IRS) eingeteilt. Der IRS setzt sich zusammen aus dem Prozentsatz der angefärbten Tumorzellkerne (PP = 0 - 4), multipliziert mit der vorherrschenden Farbintensität (SI = 0 - 3) im angefärbten Bereich:

Immunreaktiver Score IRS = PP × SI:

0 d. h. negativ = 0

1 d. h. schwach positiv = 1 - 3

2 d. h. mäßig positiv = 4 - 7

3 d. h. stark positiv = 8 - 12

Gemäß der Routinediagnostik im Pathologischen Institut der Universitätsklinik Tübingen gingen alle mäßig positiv und stark positiv bewerteten Präparate als „positiv“ in die Auswertung ein. Die schwach positiven und negativen Präparate wurden in der Auswertung als „negativ“ behandelt.

2.6.3.2 c-erb-B2 / Her-2/neu

Der Nachweis von c-erb-B2, einem Wachstumsfaktor der EGFR-Familie, wurde mit einem polyklonalen Antikörper erbracht und nur die Anfärbung der Zellmembran bewertet. Eine Überexpression des Her-2-Onkoproteins beruht nach heutigen Kenntnissen in der Regel auf einer Genamplifikation.

Die Anfärbungen der Präparate wurden nach dem Immunreaktiven Score eingeteilt:

Immunreaktiver Score IRS:

0 = negativ (negative oder < 10 % positive Membranfärbung der Tumorzellen)

1 = negativ (schwache und inkomplette Membranfärbung > 10 % der Tumorzellen)

2 = schwach positiv (schwache/mäßiggradige komplette Membranfärbung > 10 % der Tumorzellen)

3 = stark positiv (starke komplette Membranfärbung > 10 % der Zellen)

Da in Phase-III-Studien gezeigt wurde, dass insbesondere Patientinnen mit einem IRS von 3 (stark positiv) auf eine Antikörpertherapie gegen Her-2/neu ansprechen und bei diesen Patientinnen regelmäßig eine Genamplifikation vorliegt, wurden nur die 3-fach positiven Präparate in unserer Analyse als „positiv“ gewertet. In anderen Studien konnte jedoch auch gezeigt werden, dass 25 % der Patientinnen mit einem IRS von 2 (schwach positiv) eine Genamplifikation des Her-2-Gens aufweisen [LEB 2001]. Dies fand in unserer retrospektiven Analyse keine Berücksichtigung. Mit 0 - 2 bewertete Präparate gingen als „negativ“ in die Auswertung mit ein.

2.6.3.3 p53

Das p53-Gen nimmt in gesunden Zellen die Funktion eines Tumorsuppressorgens ein. Ist das exprimierte Protein fehlerhaft, akkumuliert es in den Zellen und kann immunhistochemisch angefärbt werden. Die Prozentzahl angefärbter Tumorzellen wurde dokumentiert. Der Antikörper DO-7 färbt sowohl p53-Protein im Wildtyp als auch die

mutierten Formen des Proteins an. Da nur mutiertes Protein in den Zellen akkumuliert, werden Zellen als positiv gewertet, in denen eine mutierte Form des Proteins p53 vorliegt. Nachdem schon in vorausgegangenen Studien zur p53-Expression im Mammakarzinomgewebe diese Einteilung gewählt worden war und als am aussagekräftigsten bewertet wurde [ZEL 2000, ALL 1993], kam in unserer Analyse jede Anfärbung > 0 % des Tumorpräparates in die „positive“ Gruppe, die Präparate, in denen keine angefärbten Tumorzellen zu sehen waren, bildeten die „negative“ Gruppe.

2.6.3.4 Ki-67/MIB1

Der Proliferationsfaktor Ki-67 wurde durch einen monoklonalen Antikörper der MIB1-Familie angefärbt und die Anfärbung der Tumorzellkerne beurteilt. Eine prozentuale Angabe angefärbter Tumorzellkerne wurde vorgenommen, und die Präparate, in denen eine Expression von Ki-67 in > 10 % der Tumorzellen vorlag, wurden als „positiv“ bezeichnet, 10 % und weniger als „negativ“. Die prozentuale Anfärbung von Ki-67 in den Tumorzellen war eher homogen zwischen 0 % und 100 % verteilt. Der Schnittpunkt wurde bei $\leq/ > 10$ % gewählt, da der Untersucher hier die sicherste visuelle Unterscheidung von „positiven“ und „negativen“ Präparaten sah.

2.6.3.5 Bcl-2

Die zytoplasmatische Anfärbung des Apoptose-Inhibitors Bcl-2 wurde mit monoklonalen Antikörpern durchgeführt und prozentual beurteilt. Tumoren, die in der immunhistochemischen Färbung Bcl-2 in > 50 % exprimierten, wurden als „positiv“, bei Exprimierung ≤ 50 % als „negativ“ gewertet. Der Schnittpunkt für eine „positive“/„negative“ Wertung wurde hier so mittig gesetzt, da überwiegend sehr hohe Prozentzahlen (60 % - 100 %) oder prozentuale Anfärbungen ≤ 10 % vorlagen.

2.6.3.6 VEGF

Der Nachweis von vasoendotheliale Wachstumfaktor VEGF in den Tumorzellarealen wurde mit monoklonalen Antikörpern durchgeführt. Hier wurde jede Farbintensität > 0 % als „positiv“ bezeichnet, da die meisten Präparate, die eine Anfärbung zeigten, nur eine schwache Färbung von 10 % - 20 % aufwiesen. Der Großteil der Präparate zeigte keine sichtbare Anfärbung von VEGF in den Tumorzellen und wurde als „negativ“ gewertet. Um eine Unterscheidung bezüglich der Anfärbung auf VEGF machen zu können, musste der Schnittpunkt so niedrig gesetzt werden.

2.7 Auswertung

Die univariate Analyse zu lokaler Tumorkontrolle, fernmetastasenfreiem Überleben, krankheitsfreiem Überleben und Gesamtüberleben wurde mithilfe des Log-Rang-Tests und des Cox-F-Tests durchgeführt. Für die multivariate Analyse der lokalen Tumorkontrolle verwendete man das Cox-Modell, und die Überlebenskurven wurden nach der Methode von Kaplan-Meier erstellt [LEE 1992].

Die Grenze für ein signifikantes Ergebnis der univariaten Analysen wurde bei $p < 0,05$ festgelegt, $0,05$ wurde als grenzwertig signifikant gewertet und $p < 0,1$ als Trend bezeichnet.

Alle Tests wurden mit der Software von STATISTIKA durchgeführt (Version 5.1; StatSoft Inc., Tulsa, USA).

3 Ergebnisse

3.1 Nachbeobachtungszeitraum

Die mediane Nachbeobachtungszeit der 119 Patientinnen, die zwischen 1990 und 1998 mit einer Elektronen-Rotations-Bestrahlung der Brustwand nach modifiziert radikaler Mastektomie behandelt wurden, betrug 45 Monate [3 - 112 Monate]. Die beim letzten Follow-up noch lebenden Patientinnen wurden im Schnitt 72 Monate [5 - 112 Monate] nachbeobachtet, wobei bei 4 Patientinnen (3 %) das letzte Follow-up vor Beginn des Jahres 1999 erhoben wurde. Bei einer Patientin konnte kein Follow-up erfolgen.

3.2 Alter

Das mediane Alter der Patientinnen zu Beginn der Bestrahlung betrug 61 Jahre [27 - 85 Jahre] (Vgl. Abbildung 5).

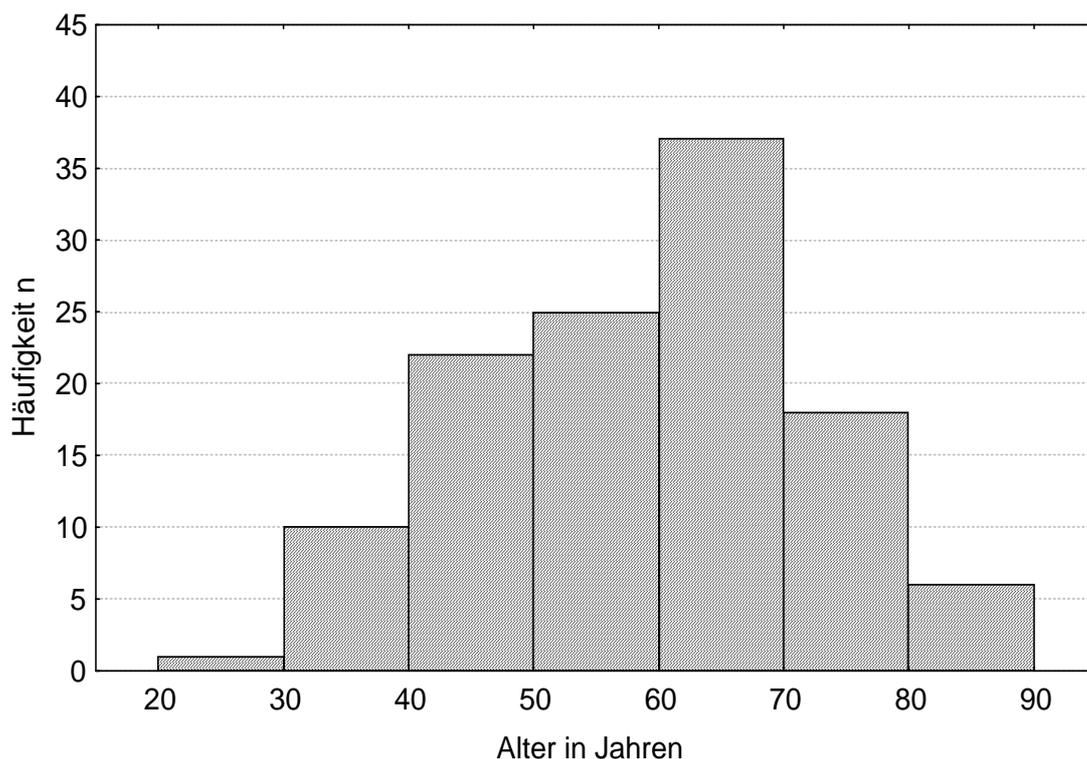


Abbildung 5: Alter in Jahren

3.3 Lokalrezidive

Im beobachteten Zeitraum wurde bei insgesamt 17 Patientinnen (14 %, absolute lokale Tumorkontrolle; Vgl. Abbildung 6) ein Lokalrezidiv festgestellt. Dabei trat bei 9 % (n = 11) der Patientinnen das Lokalrezidiv zeitgleich oder erst nach der Manifestation von Fernmetastasen auf, bei 5 % (n = 6) der Patientinnen war das Lokalrezidiv Erstmanifestation einer Rezidivkrankung ihres Mammakarzinoms (= LC1st; Vgl. Abbildung 7). Die Lokalrezidive wurden im Median 20 Monate [2 - 85 Monate] nach Beginn der Bestrahlung festgestellt. Lokalrezidive als Erstmanifestation einer Rezidivkrankung traten im Median nach 7 Monaten [1 - 33 Monate] auf.

Das absolute 5-Jahre lokalrezidivfreie Überleben betrug 83 % (Kaplan-Meier-Analyse).

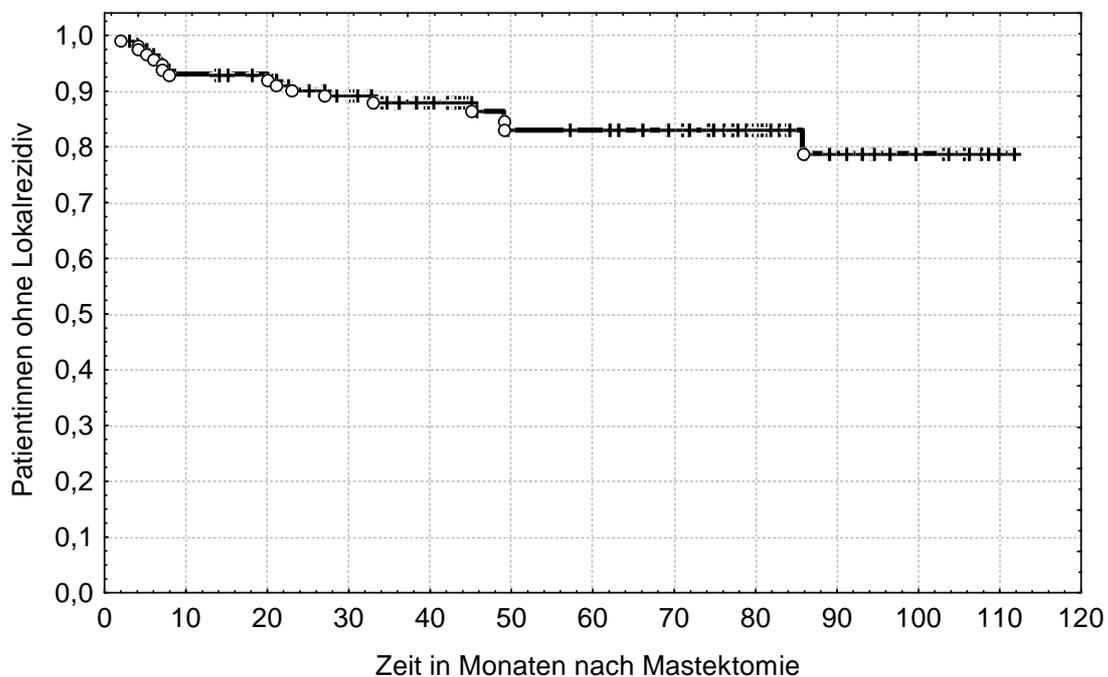


Abbildung 6: Absolute lokale Tumorkontrolle

Legende: Absolute lokale Tumorkontrolle = Gesamtzahl an Patientinnen ohne Lokalrezidiv
Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

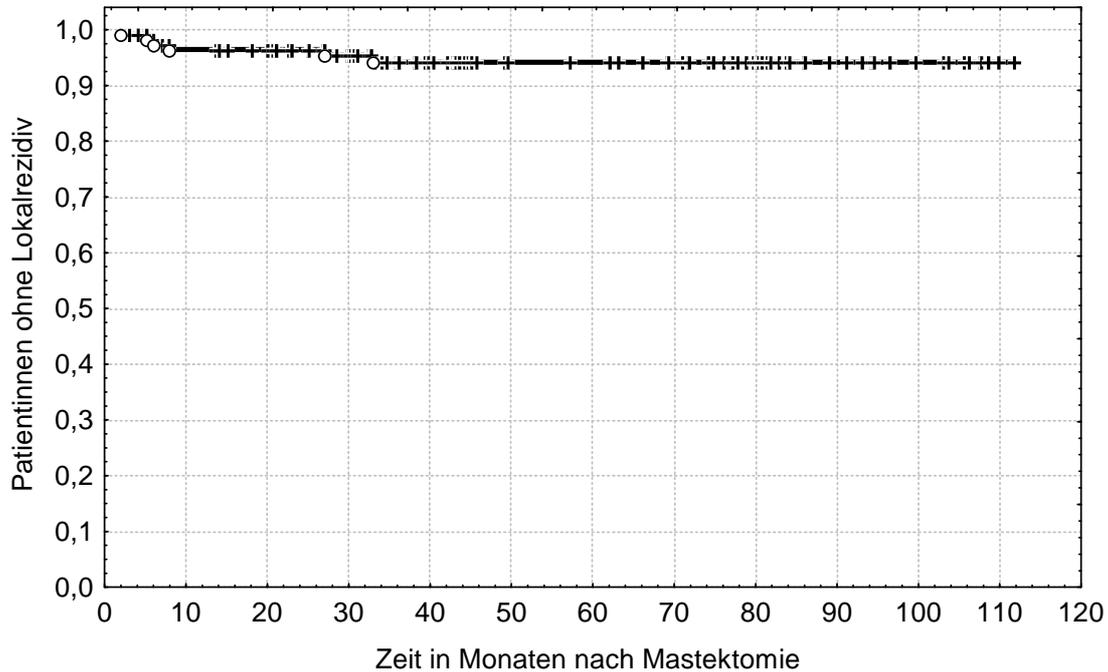


Abbildung 7: LC1st

Legende: LC1st = lokale Tumorkontrolle, falls kein Lokalrezidiv als Erstmanifestation eines Rezidivs auftrat
 Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

3.4 Überleben

3.4.1 Fernmetastasenfreies Überleben

Das 5-Jahre fernmetastasenfreie Überleben betrug 60 % (Kaplan-Meier-Analyse). IN unserer Statistik wurden auch die Patientinnen eingeschlossen, die Fernmetastasen erst nach dem Auftreten eines Lokalrezidivs entwickelten.

3.4.2 Krankheitsfreies und krankheitsspezifisches Überleben

Das 5-Jahre krankheitsfreie Überleben (= lokalrezidiv- und fernmetastasenfreies Überleben) betrug 58 %, die 5-Jahres-Rate für das Versterben an den Folgen der Mammakarzinomerkrankung 30 %.

3.4.3 Gesamtüberleben

Insgesamt lebten am Ende des Beobachtungszeitraumes noch 66 (57 %) der 119 Patientinnen, 53 (43 %) waren verstorben. Das 5-Jahres-Gesamtüberleben betrug 62 % (Vgl. Abbildung 8). Von den verstorbenen Patientinnen erlagen 40 (76 %) ihrer Mammakarzinomkrankung, während 13 Patientinnen (24 %) an anderen Ursachen verstarben. Zwei Patientinnen erlitten einen Herzinfarkt, wobei bei einer Patientin eine ischämische Herzerkrankung vor Diagnosestellung des Mammakarzinoms bekannt war und bei ihr keine Bestrahlung der ipsilateralen Lymphknoten der A. mammaria interna durchgeführt wurde, die andere Patientin erhielt eine Bestrahlung der parasternalen Lymphknoten. Zwei Patientinnen verstarben an metastasierten Magenkarzinomen, eine Patientin erlag einem zerebralen Insult, zwei verstarben an Lungenembolien. Bei 5 Patientinnen war keine eindeutige Todesursache festzustellen.

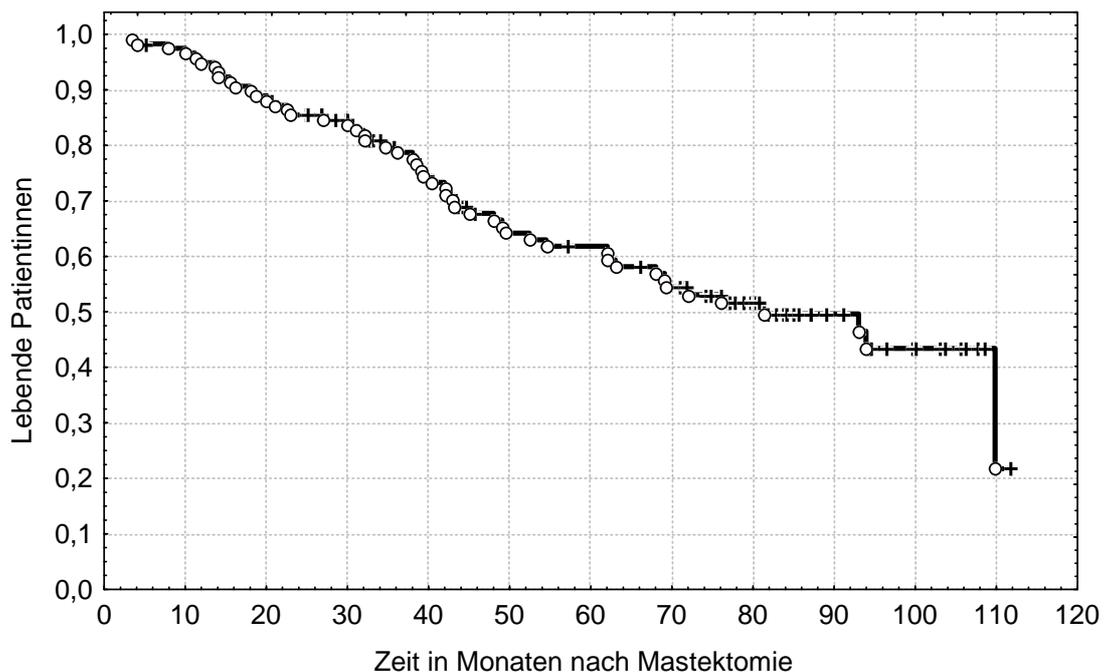


Abbildung 8: Gesamtüberleben

Legende: Gesamtüberleben = Gesamtzahl aller lebenden Patientinnen
 Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

3.5 Risikofaktorenanalyse

3.5.1 Univariate Auswertung der neuen Faktoren c-erb-B2, p53, Ki-67, Bcl-2 und VEGF

Die Auswertung der eventuellen neuen Prognosefaktoren c-erb-B2, p53, Ki-67, Bcl-2 und VEGF wurde primär bezüglich der Lokalrezidivrate durchgeführt. Zum einen erfolgte die Auswertung in Bezug auf die Lokalrezidive, die als Erstmanifestation einer Rezidivkrankung auftraten. Die lokale Tumorkontrolle wird hier LC1st genannt. Zum anderen wurden die Faktoren auf ihren Einfluss auf die Rate an insgesamt (absolut) aufgetretenen Lokalrezidiven untersucht.

Schließlich wurde geprüft, ob die untersuchten Faktoren eine Rolle als Prognosefaktoren beim Mammakarzinom spielen, und ihre Auswirkungen auf das Überleben, das heißt fernmetastasenfreies, krankheitsfreies Überleben und das Gesamtüberleben der Patientinnen bewertet.

Eine Darstellung der Anzahl an positiv/negativ gefärbten Tumorpräparaten der Patientinnen bezüglich der neuen Faktoren erfolgt in Tabelle 6.

Tabelle 6: Anzahl der immunhistochemisch positiv/negativ bewerteten Patientinnen bezüglich der neuen Faktoren

	Gesamt n	positiv n	negativ n
c-erb-B2	105	15 (16 %) (IRS = 3)	90 (94 %) (IRS = 0 - 2)
p53	105	64 (67 %) (> 0 % Anfärbung)	41 (43 %) (keine Anfärbung)
Ki-67	105	65 (68 %) (> 10 % Anfärbung)	40 (42 %) (≤ 10 % Anfärbung)
Bcl-2	105	61 (64 %) (> 50 % Anfärbung)	44 (46 %) (≤ 50 % Anfärbung)
VEGF	105	40 (42 %) (> 0 % Anfärbung)	65 (68 %) (keine Anfärbung)

3.5.1.1 Univariate Auswertung der neuen Faktoren bezüglich der Lokalrezidivhäufigkeit

Für sich allein genommen hatte keiner der neuen Faktoren prognostische Aussagefähigkeit bezüglich der lokalen Tumorkontrolle. Weder für LC1st, das heißt eines Lokalrezidivs als Erstmanifestation eines Rezidivs, noch im Hinblick auf die absolute lokale Tumorkontrolle konnten Signifikanzen festgestellt werden (Vgl. Tabelle 7).

Tabelle 7: Univariate Analyse der neuen Faktoren bezüglich der lokalen Tumorkontrolle

	n	LC1st Log-Rang-Test / Cox´F-Test 5-Jahres-Rate in %	n	Absolute lokale Tumorkontrolle Log-Rang-Test / Cox´F-Test 5-Jahres-Rate in %
c-erb-B2 + / -	105	n.s. / n.s. 96 / 93	105	n.s. / n.s. 84 / 84
p53 + / -	105	n.s. / n.s. 98 / 92	105	n.s. / 0,08 88 / 78
Ki-67 + / -	105	n.s. / n.s. 98 / 94	105	n.s. / n.s. 88 / 81
Bcl-2 + / -	105	n.s. / n.s. 96 / 95	105	n.s. / n.s. 86 / 82
VEGF + / -	105	n.s. / n.s. 97 / 95	105	n.s. / n.s. 85 / 82

+ = positiv, - = negativ, n.s. = nicht signifikant

n = 105 ergibt sich aus der Zahl an immunhistochemisch auswertbaren Präparaten

3.5.1.2 Univariate Auswertung der neuen Faktoren im Hinblick auf Gesamtüberleben, fernmetastasenfreies, krankheitsfreies und krankheitsspezifisches Überleben

Bei den c-erb-B2-positiven Patientinnen konnte im Cox´F-Test ein signifikant verkürztes krankheitsspezifisches und ein im Trend verkürztes Gesamtüberleben beobachtet werden ($p = 0,04$ und $p = 0,07$).

Für Ki-67-positive Patientinnen konnte ein Trend für ein verkürztes fernmetastasenfreies und ein signifikant verkürztes krankheitsspezifisches Überleben nachgewiesen werden

($p = 0,06$ und $p = 0,03$). Bei Patientinnen mit Bcl-2-Überexpression wurde ein verlängertes krankheitsspezifisches Überleben gefunden ($p = 0,03$ im Cox´F-Test).

Bezüglich des fernmetastasenfreien Überlebens konnte für VEGF-negative Patientinnen ein grenzwertig signifikant verlängertes fernmetastasenfreies sowie krankheitsspezifisches Überleben ($p = 0,05$ und $p = 0,06$, beide im Cox´F-Test) nachgewiesen werden.

Tabelle 8: Univariate Auswertung der neuen Faktoren bezüglich des Überlebens

	n	fernmetastasenfreies Überleben Log-Rang-Test / Cox´F-Test 5-Jahres-Rate in %	n	krankheitsfreies Überleben Log-Rang-Test / Cox´F-Test 5-Jahres-Rate in %	n	krankheitsspezifisches Überleben Log-Rang-Test / Cox´F-Test 5-Jahres-Rate in %	n	Gesamtüberleben Log-Rang-Test / Cox´F-Test 5-Jahres-Rate in %
c-erb-B2 + / -	105	n.s. / n.s. 59 / 56	105	n.s. / n.s. 57 / 58	105	n.s./ p=0,04 57 / 72	105	n.s. / p=0,07 53 / 63
p53 + / -	105	n.s. / n.s. 56 / 61	105	n.s. / n.s. 56 / 61	105	n.s. / n.s. 68 / 73	105	n.s. / n.s. 61 / 61
Ki-67 + / -	105	p=0,06 / n.s. 57 / 59	105	n.s. / n.s. 54 / 64	105	p=0,03 / p=0,01 64 / 80	105	n.s. / n.s. 58 / 66
Bcl-2 + / -	105	n.s. / n.s. 51 / 69	105	n.s. / n.s. 59 / 56	105	n.s. / p=0,03 75 / 63	105	n.s. / n.s. 61 / 61
VEGF + / -	105	n.s. / p=0,05 73 / 49	105	n.s. / n.s. 54 / 61	105	n.s. / p=0,06 67 / 72	105	n.s. / n.s. 62 / 61

+ = positiv, - = negativ, n.s. = nicht signifikant

n = 105 ergibt sich aus der Zahl an immunhistochemisch auswertbaren Präparaten

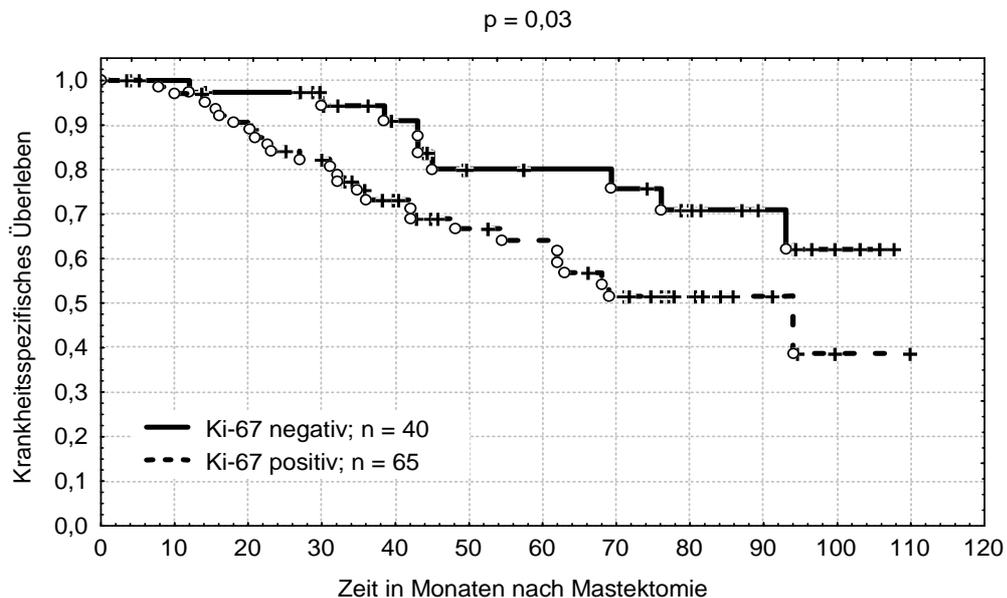


Abbildung 9: Krankheitsspezifisches Überleben in Abhängigkeit von Ki-67-Expression

Legende: Krankheitsspezifisches Überleben = Patientinnen, die nicht an den Folgen der Mammakarzinomerkrankung verstorben sind
Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

3.5.2 Univariate Analyse der etablierten Prognosefaktoren

Bekannte Prognosefaktoren wurden bezüglich der Endpunkte der Studie ausgewertet, dazu gehörten das Alter der Patientinnen, Charakteristika des Primärtumors, Nodalstatus, Resektionsweite, Vorliegen einer Lymphangiosis carcinomatosa oder Lymphangiosis cutis, Pektoralisinfiltration sowie die durchgeführten therapeutischen Maßnahmen.

Die Auswertung der Faktoren wurde erst bezüglich der Lokalrezidivrate, die als Erstmanifestation einer Rezidivkrankung auftrat, vorgenommen. Die lokale Tumorkontrolle wird hier LC1st genannt.

Danach wurden die Faktoren auf ihren Einfluss auf die Rate an insgesamt (\cong absolut) aufgetretenen Lokalrezidiven untersucht.

3.5.2.1 Univariate Analyse der etablierten Prognosefaktoren bezüglich der Lokalrezidivhäufigkeit (Lokalrezidiv als Erstmanifestation eines Rezidivs)

Bei der univariaten Auswertung von LC1st erwiesen sich multizentrisches Tumorwachstum und eine „knappe“ oder „positive“ Resektion als Prognosefaktoren für das Auftreten eines Lokalrezidivs als Erstmanifestation einer Rezidivkrankung (Vgl. Abbildung 10 - 12). Für sich allein genommen konnte für keinen der übrigen etablierten Prognosefaktoren Aussagefähigkeit in Bezug auf LC1st gezeigt werden. (Vgl. Tabelle 9).

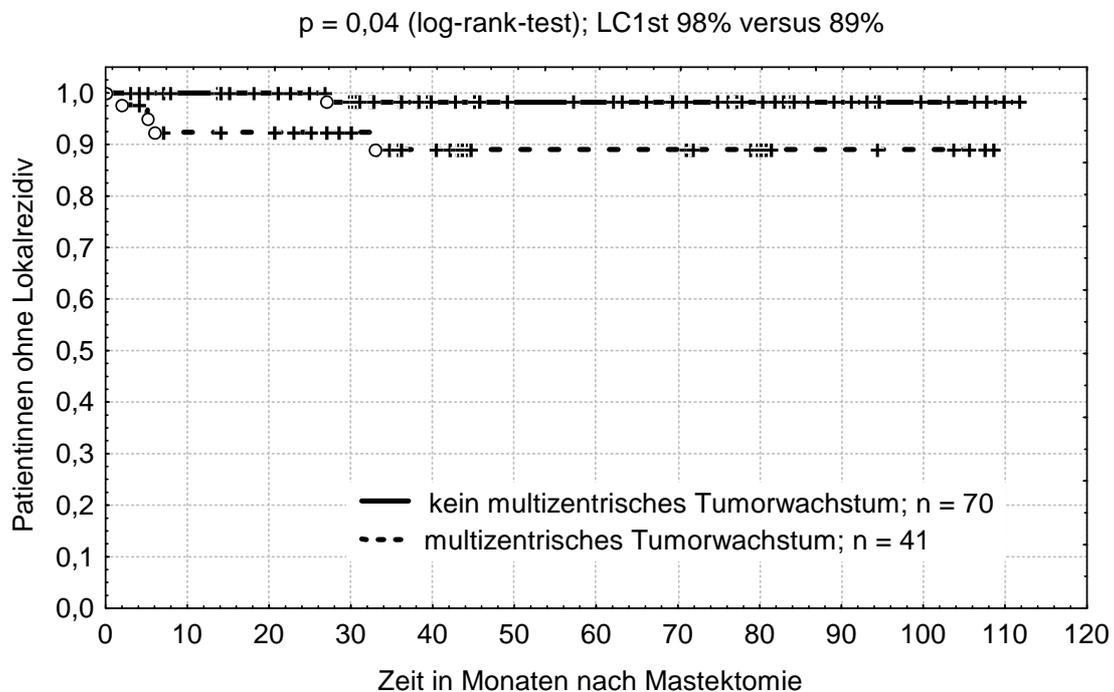


Abbildung 10: LC1st in Abhängigkeit von multizentrischem Tumorwachstum

Legende: LC1st = lokale Tumorkontrolle, falls kein Lokalrezidiv als Erstmanifestation einer Rezidivkrankung auftrat

Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

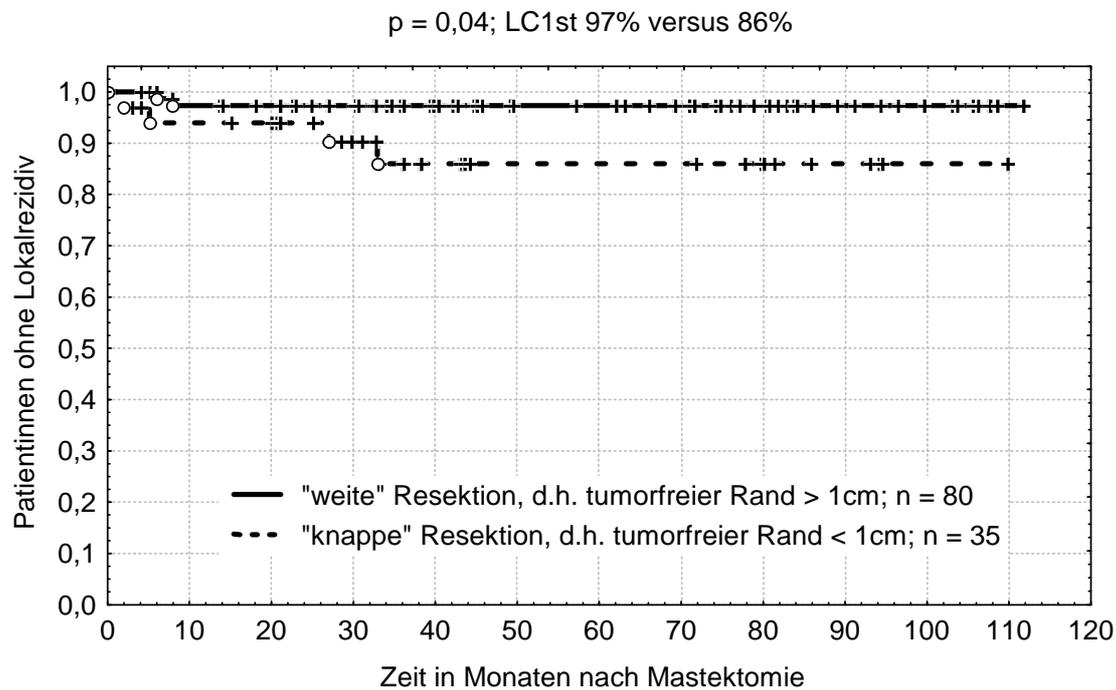


Abbildung 11: LC1st in Abhängigkeit von der Resektionsweite 1

Legende: LC1st = lokale Tumorkontrolle, falls kein Lokalrezidiv als Erstmanifestation einer Rezidivkrankung auftrat

Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

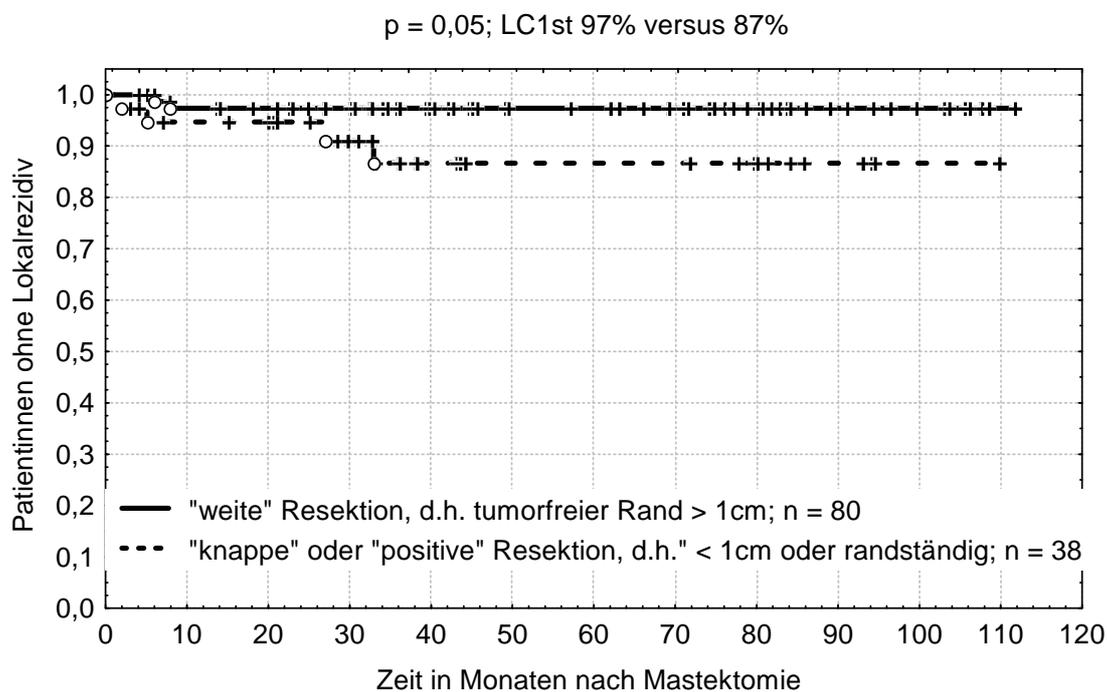


Abbildung 12: LC1st in Abhängigkeit von der Resektionsweite 2

Legende: LC1st = lokale Tumorkontrolle, falls kein Lokalrezidiv als Erstmanifestation einer Rezidivkrankung auftrat

Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

Tabelle 9: Etablierte Prognosefaktoren ohne Vorhersagekraft bezüglich LC1st

	LC1 st	log-Rank-Test p-Wert	Cox'F-Test p-Wert
Alter < / ≥ 35 Jahre	100 / 94	n.s.	n.d.
Alter < / ≥ 50 Jahre (prä- / postmenopausal)	100 / 92	n.s.	n.d.
Alter < / ≥ 61 Jahre (medianes Alter)	98 / 91	n.s.	0,04
pT1, 2 / pT3, 4	96 / 93	n.s.	n.s.
Tumorgroße < / ≥ 5cm	97 / 88	n.s.	0,07
Multifokalität - / +	100 / 93	n.s.	n.d.
Pektoralisinfiltration - / +	100 / 93	n.s.	n.s.
G1, 2a / G2b, 3	97 / 91	n.s.	n.s.
Östrogenrezeptoren + / -	96 / 96	n.s.	n.s.
Progesteronrezeptoren + / -	98 / 94	n.s.	n.s.
Hormonrezeptoren + / -	98 / 89	n.s.	n.s.
pN0 / pN1, 2, 3	100 / 93	n.s.	n.d.
bis pN _{bii} / ab pN _{biii}	97/92	n.s.	n.s.
0 - 3 LK / > 3 LK	97 / 93	n.s.	n.s.
1 - 3 LK / > 3 LK	95 / 93	n.s.	n.s.
pN0, Level 1 / Level 2, 3	95 / 95	n.s.	n.s.
Level 1 / Level 2, 3	95 / 93	n.s.	n.s.
„knappe“ Resektion / „positive“ Resektionsränder	97 / 94	n.s.	n.s.
Lymphabflussbestrahlung + / -	93 / 95	n.s.	n.s.
Aufsättigung des Tumorbetts + / -	100 / 93	n.s.	n.d.
Adjuvante Systemtherapie - / +	95 / 93	n.s.	n.s.

LC1st = kein Lokalrezidiv als Erstmanifestation eines Rezidivs nach 5 Jahren in %, ER = Östrogen- ;
PR = Progesteronrezeptoren; LK = Lymphknoten; n.s. = nicht signifikant; n.d. = nicht durchgeführt

3.5.2.2 Univariate Analyse der etablierten Faktoren bezüglich der absoluten Lokalrezidivhäufigkeit

Bei der Auswertung der absoluten lokalen Tumorkontrolle konnten Tumorgroße $\geq 5\text{cm}$, niedrige histopathologische Differenzierung des Tumors (G2b/G3), negativer Hormonrezeptorstatus, Lymphangiosis carcinomatosa oder cutis, Lymphknotenbefall, Lymphknotenbefall mit kapselüberschreitendem Wachstum oder > 3 befallene Lymphknoten sowie „knappe“ oder „positive“ Resektionsränder als Prognosefaktoren für das Auftreten eines Lokalrezidivs erkannt werden (Vgl. Abbildung 13 - 21). Faktoren ohne Vorhersagekraft für die lokale Tumorkontrolle wurden in Tabelle 10 dargestellt.

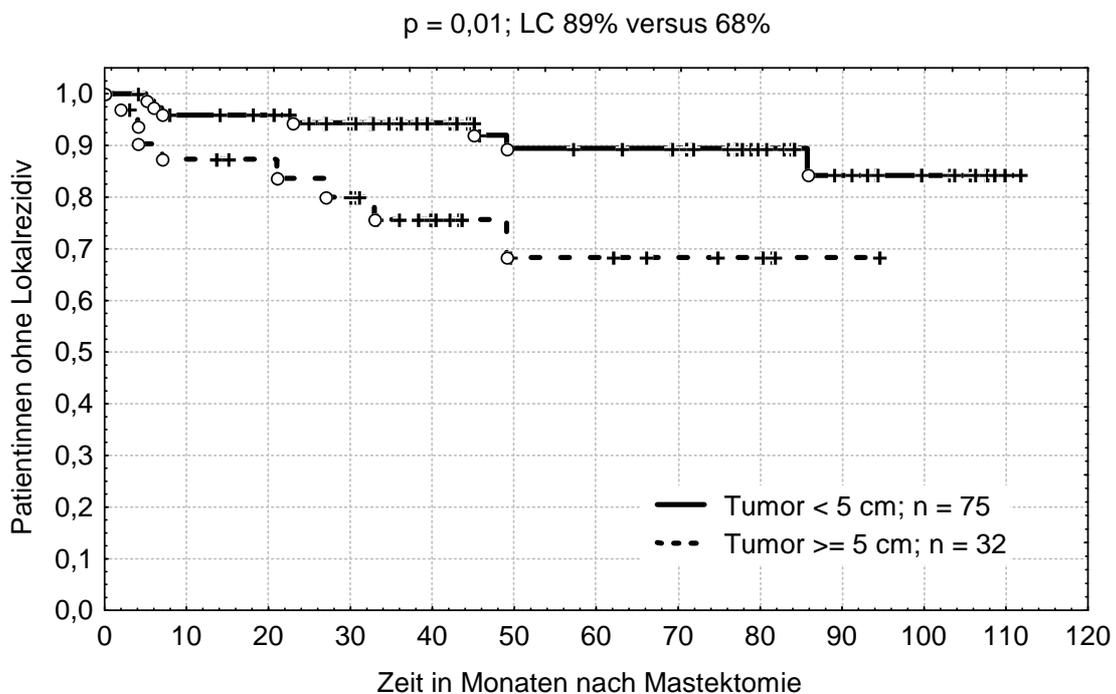


Abbildung 13: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit von der Tumorgroße $\geq / < 5$ cm

Legende: Absolute lokale Tumorkontrolle = Gesamtzahl an Patientinnen ohne Lokalrezidiv
 Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

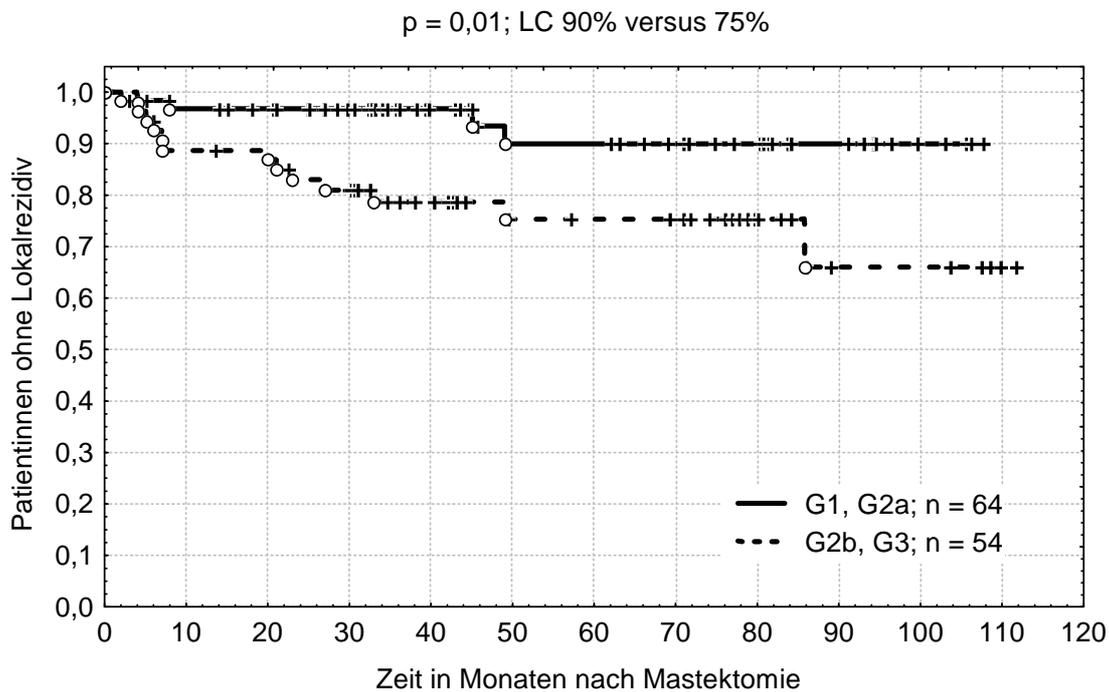


Abbildung 14: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit vom Grading

Legende: Absolute lokale Tumorkontrolle = Gesamtzahl an Patientinnen ohne Lokalrezidiv
 Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

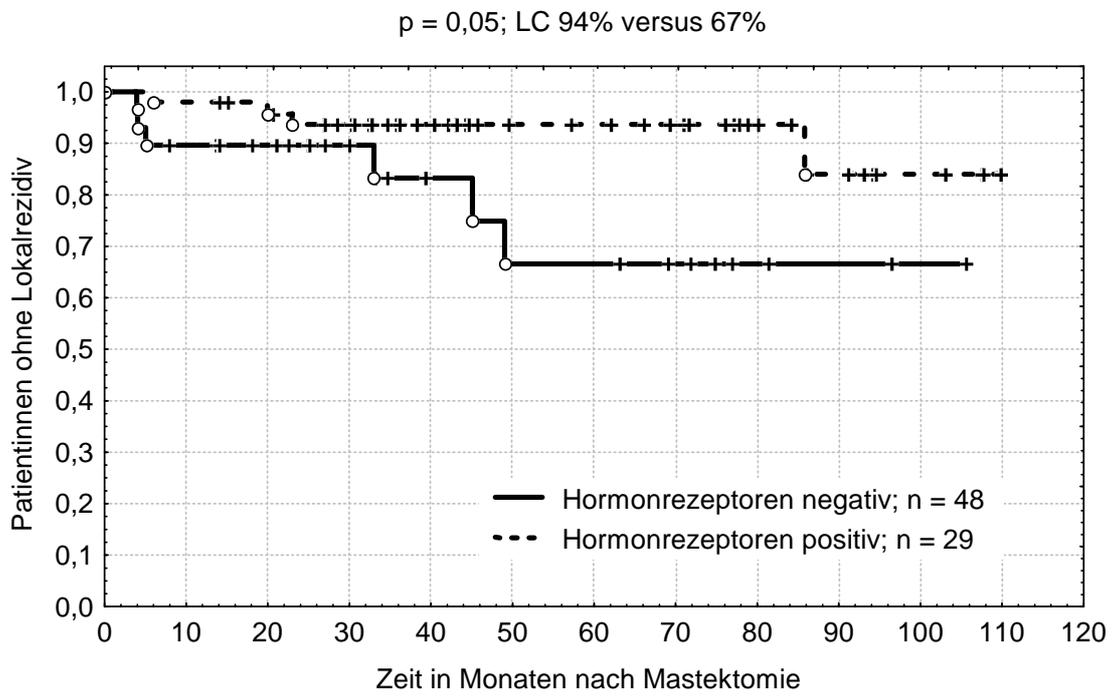


Abbildung 15: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit von der Hormonrezeptorenexpression

Legende: Absolute lokale Tumorkontrolle = Gesamtzahl an Patientinnen ohne Lokalrezidiv
 Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

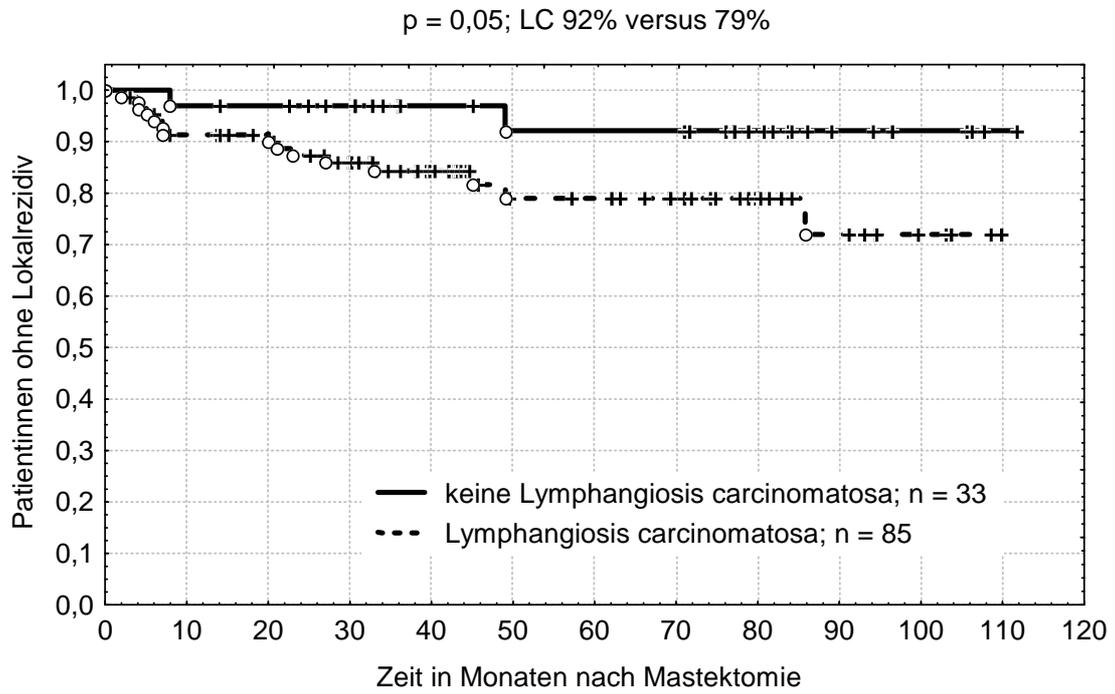


Abbildung 16: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit von Lymphangiosis carcinomatosa

Legende: Absolute lokale Tumorkontrolle = Gesamtzahl an Patientinnen ohne Lokalrezidiv
 Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

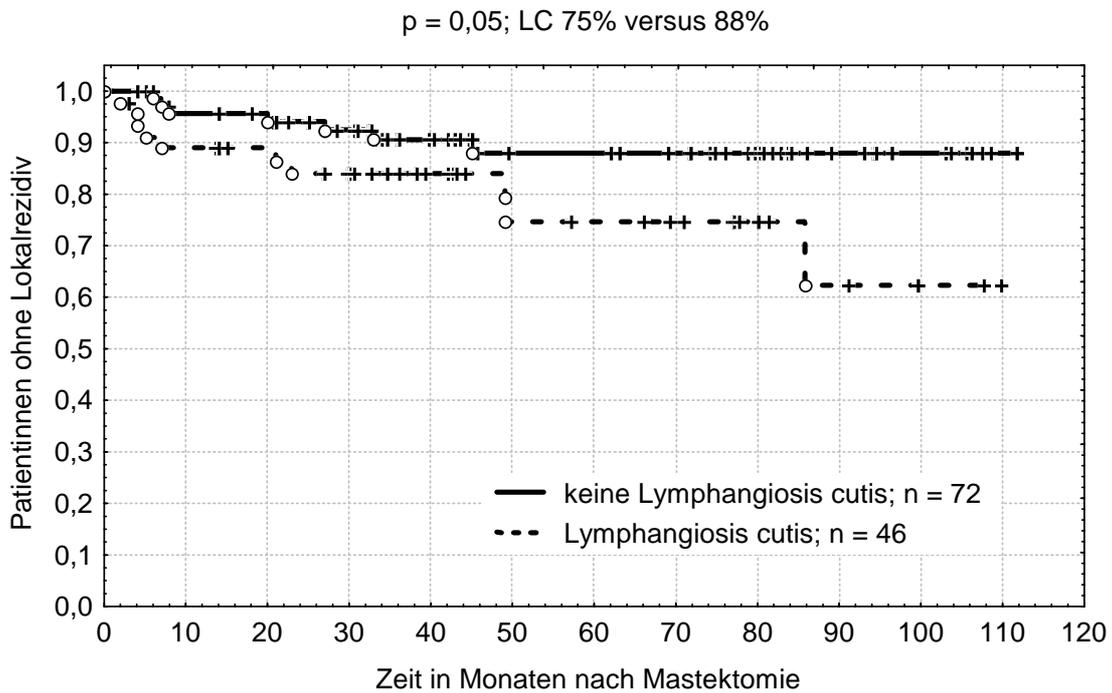


Abbildung 17: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit von Lymphangiosis cutis

Legende: Absolute lokale Tumorkontrolle = Gesamtzahl an Patientinnen ohne Lokalrezidiv
 Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

Die Auswertung von Lymphangiosis carcinomatosa und Lymphangiosis cutis zeigte im Cox'F-Test eine statistische Signifikanz ($p = 0,02$ und $p = 0,03$) bezüglich der lokalen Tumorkontrolle.

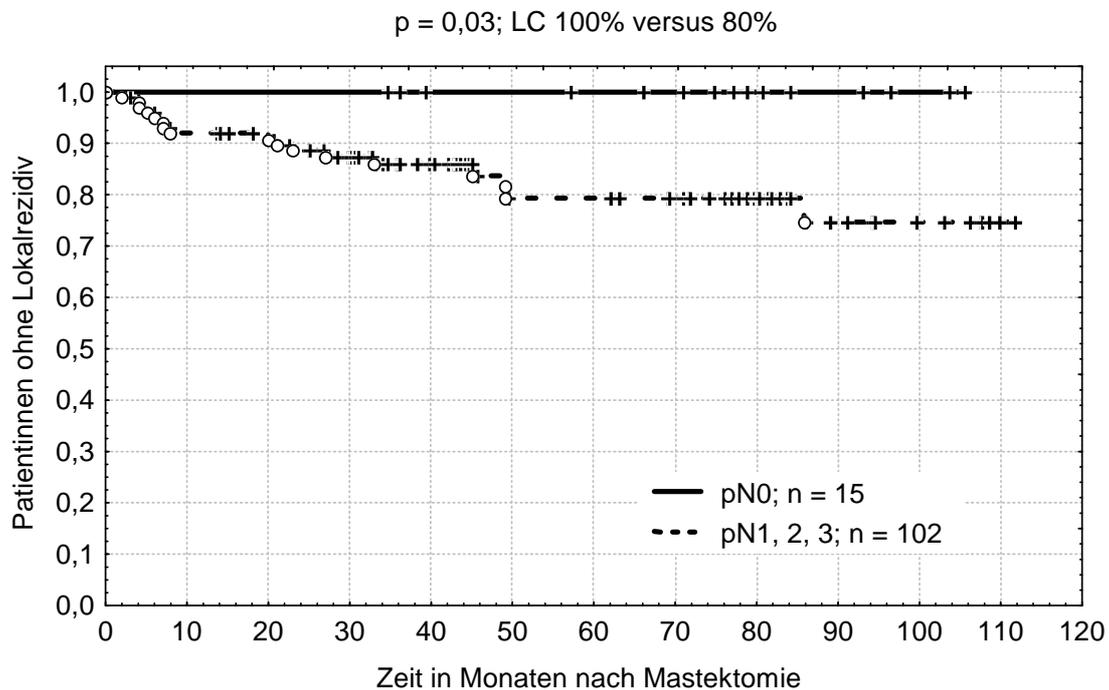


Abbildung 18: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall ja/nein

Legende: Absolute lokale Tumorkontrolle = Gesamtzahl an Patientinnen ohne Lokalrezidiv
 Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

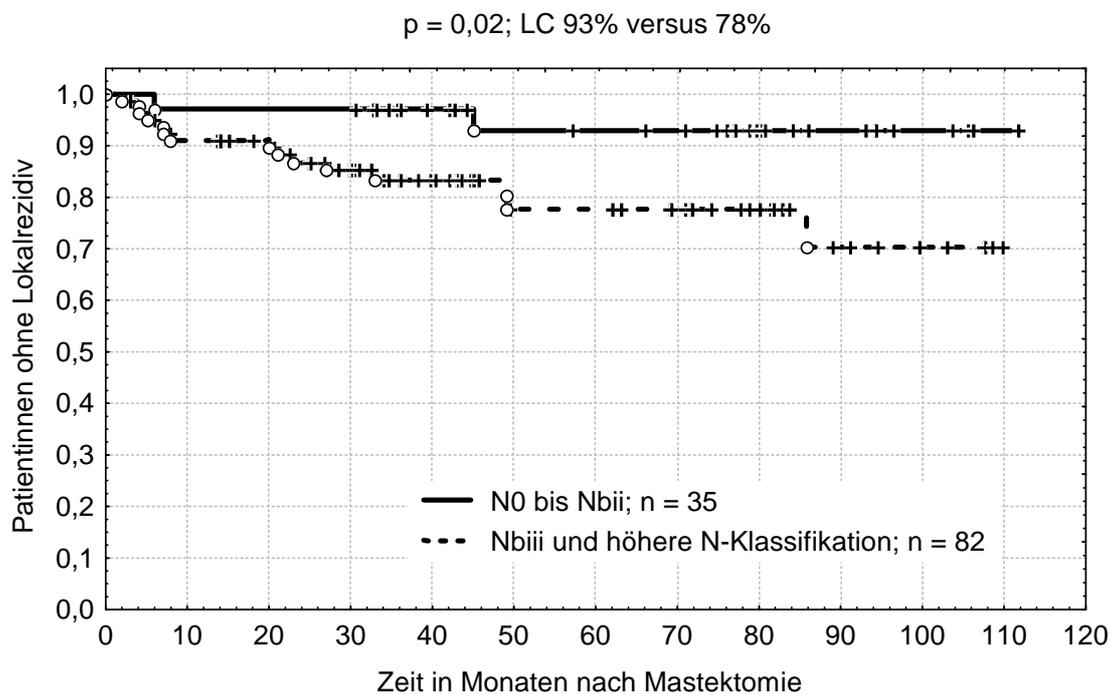


Abbildung 19: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit von kapselüberschreitendem Lymphknotenbefall

Legende: Absolute lokale Tumorkontrolle = Gesamtzahl an Patientinnen ohne Lokalrezidiv
 Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

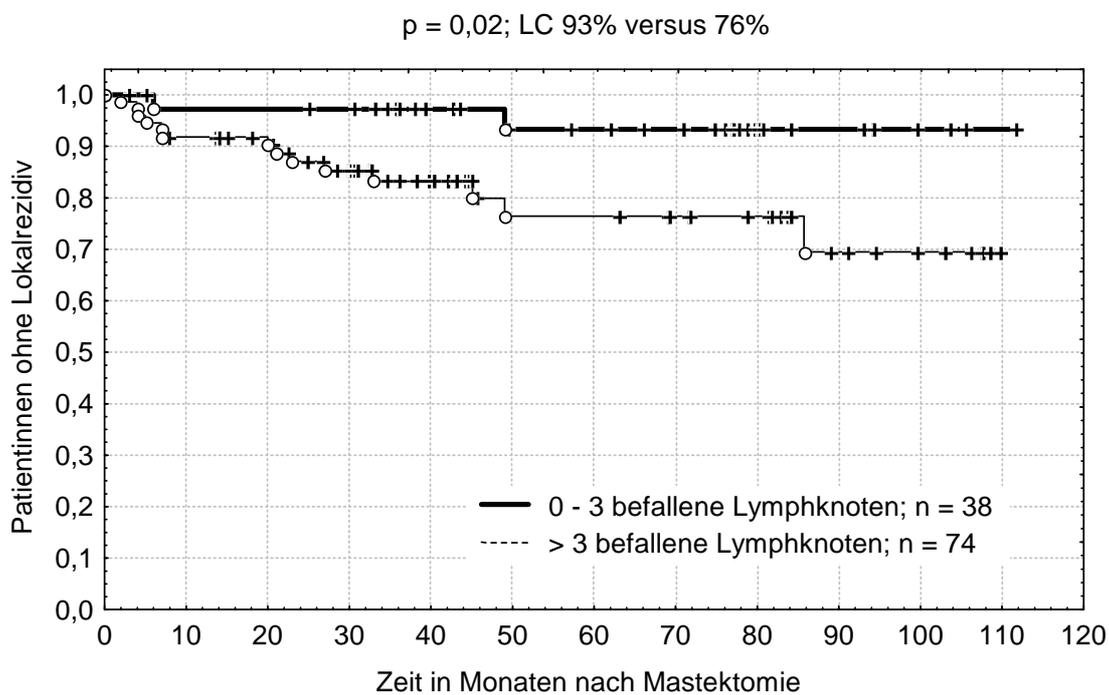


Abbildung 20: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit von 0-3/> 3 befallenen Lymphknoten

Legende: Absolute lokale Tumorkontrolle = Gesamtzahl an Patientinnen ohne Lokalrezidiv
 Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

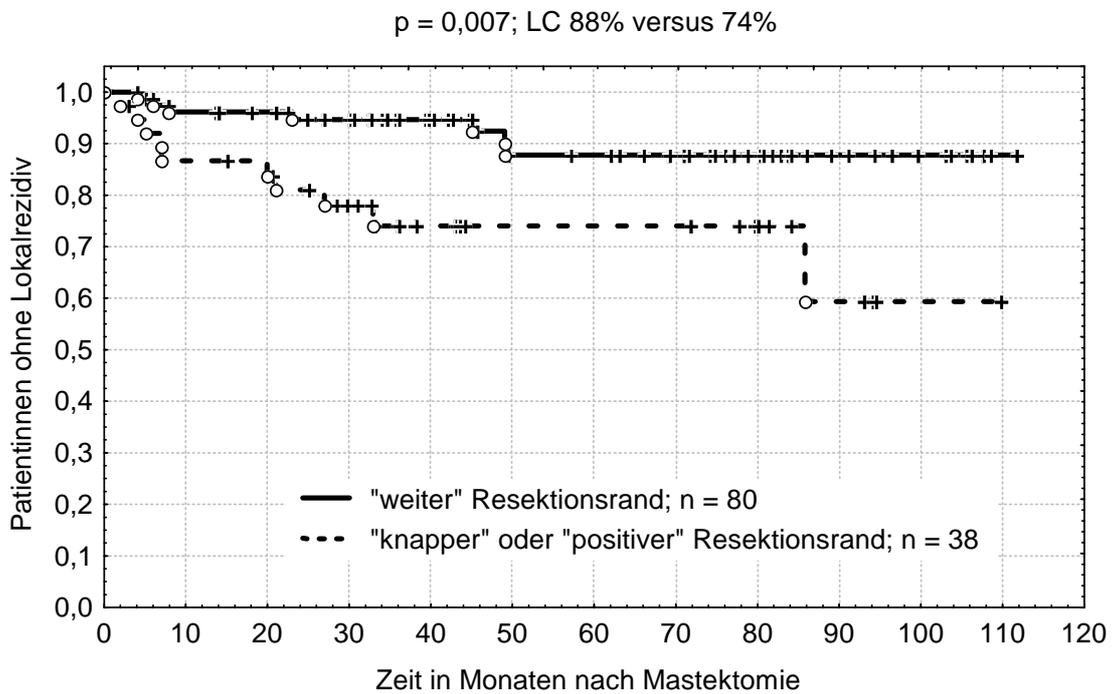


Abbildung 21: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit vom Resektionsrand

Legende: Absolute lokale Tumorkontrolle = Gesamtzahl an Patientinnen ohne Lokalrezidiv; weiter Resektionsrand = kein Tumorgewebe im Abstand von ≥ 1 cm an den Resektionsrändern, knapper Resektionsrand = Tumorgewebe im Abstand von < 1 cm an den Resektionsrändern, positiver Resektionsrand = Tumor randbildend

Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

Auch im Vergleich der „weiten“ Resektion mit der „knappen“ Resektion konnte eine geringere Lokalrezidivrate bei den Patientinnen mit „weiter“ Resektion nachgewiesen werden ($p = 0,02$; 12 % versus 22 %).

Tabelle 10: Etablierte Prognosefaktoren ohne Vorhersagekraft bezüglich der lokalen Tumorkontrolle

	LC	log-Rank-Test p-Wert	Cox´F-Test p-Wert
Alter < / > 35 Jahre	100 / 82	n.s.	n.s.
Alter < / > 50 Jahre	84 / 83	n.s.	n.s.
Alter < / > 61 Jahre	87 / 80	n.s.	n.s.
pT1, 2 / pT3, 4	87 / 77	n.s.	n.s.
Multizentrität - / +	86 / 82	n.s.	n.s.
Multifokalität	96 / 80	0,08	0,02
Pektoralisinfiltration	83 / 82	n.s.	n.s.
ER + / -	87 / 75	n.s.	n.s.
PR + / -	94 / 75	n.s.	n.s.
1 - 3 LK / > 3 LK	88 / 76	n.s.	n.s.
Level I / Level II, III	85 / 77	n.s.	n.s.
"knappe" / "positive" Resektion	78 / 33	0,08	0,07
Lymphabfluss + / -	83 / 82	n.s.	n.s.
Aufsättigung + / -	91 / 82	n.s.	n.s.
Adjuvante Systemtherapie + / -	84 / 68	n.s.	n.s.

LC = lokale Tumorkontrolle nach 5 Jahren in %; ER = Östrogenrezeptoren; PR = Progesteronrezeptoren; LK = Lymphknoten; n.s. = nicht signifikant

3.5.3 Multivariate Analyse

Bei der multivariaten Analyse mit dem Cox-Regressions-Modell, in dem durch schrittweisen Ausschluss Faktoren auf ihre Unabhängigkeit geprüft werden, wurden die Faktoren Kapseldurchbruch (\leq pNbi/ \geq pNbi), Level I/II und III befallen, 0 - 3/> 3 Lymphknoten befallen, Lymphangiosis carcinomatosa und Lymphangiosis cutis, Tumorgroße $</\geq$ 5cm, Multifokalität, Multizentrität, Hormonrezeptoren positiv/negativ, „weite“ Resektion/„knappe“ oder „positive“ Resektion, pN0/pN1, 2, 3 und G1, 2a/G2b, 3 sowie die neuen Faktoren c-erb-B2, p53, Ki-67, Bcl-2 und VEGF schrittweise ausgeschlossen.

Bezüglich LC1st wurde aufgrund der niedrigen Anzahl der Ereignisse von n = 6 auf die Durchführung einer multivariaten Analyse verzichtet.

In Bezug auf das absolute Auftreten von Lokalrezidiven erwies sich eine p53-Überexpression als unabhängiger prognostischer Faktor, bei den etablierten Faktoren konnten eine niedrige histopathologische Differenzierung (G2b/G3), positiver Hormonrezeptorstatus und „knappe“ oder „positive“ Resektionsränder als unabhängige Prognosefaktoren identifiziert werden (Vgl. Tabelle 11). Die restlichen geprüften Faktoren erwiesen sich allesamt als nicht signifikant.

Tabelle 11: Multivariate Analyse bezüglich der lokalen Tumorkontrolle

	beta	Relatives Risiko*	p-Wert
p53-Überexpression	-1,23	0,29 (0,09 - 0,9)	0,032
Grading G2b / 3	1,76	5,8 (1,7 - 19,5)	< 0,005
positive Hormonrezeptoren	-1,88	0,15 (0,04 - 0,55)	< 0,005
"knappe" oder "positive" Resektionsränder	1,18	3,25 (1,22 - 8,72)	< 0,02

$$\text{Chi}^2 = 22,35; \text{FG} = 4; p = 0,00017;$$

*die Werte in Klammern beziehen sich auf die 95 % Konfidenzintervalle

3.5.4 Univariate Analyse der Kombinationen von Faktoren bezüglich der lokalen Tumorkontrolle

Eine Kombination von verschiedenen Faktoren wurde im Hinblick auf die Identifikation von Hochrisikogruppen durchgeführt, wie sie in einer Arbeit von Hehr et al. für einen negativen Hormonrezeptorstatus und G2b/3-Tumoren bezüglich einer sehr schlechten lokalen Tumorkontrolle gefunden wurden [HEH 2002]. Dabei wurden sowohl neue als auch etablierte Faktoren vor allem mit den Hormonrezeptoren kombiniert, die den wichtigsten Prognosefaktor auf molekularer Ebene darstellen.

3.5.4.1 Abhängigkeit der lokalen Tumorkontrolle von der Kombination neuer Faktoren mit dem Hormonrezeptorstatus

Durch Kombination der untersuchten neuen eventuellen Prognosefaktoren mit dem Hormonrezeptorstatus der Patientinnen konnten keine Risikogruppen von Patientinnen für LC1st gefunden werden.

Bezüglich der absoluten lokalen Tumorkontrolle konnte für p53-Negativität und MIB1-Positivität, jeweils in Kombination mit einem negativen Hormonrezeptorstatus, ein vermehrtes Auftreten von Lokalrezidiven gezeigt werden (Vgl. Abbildung 22 und 23).

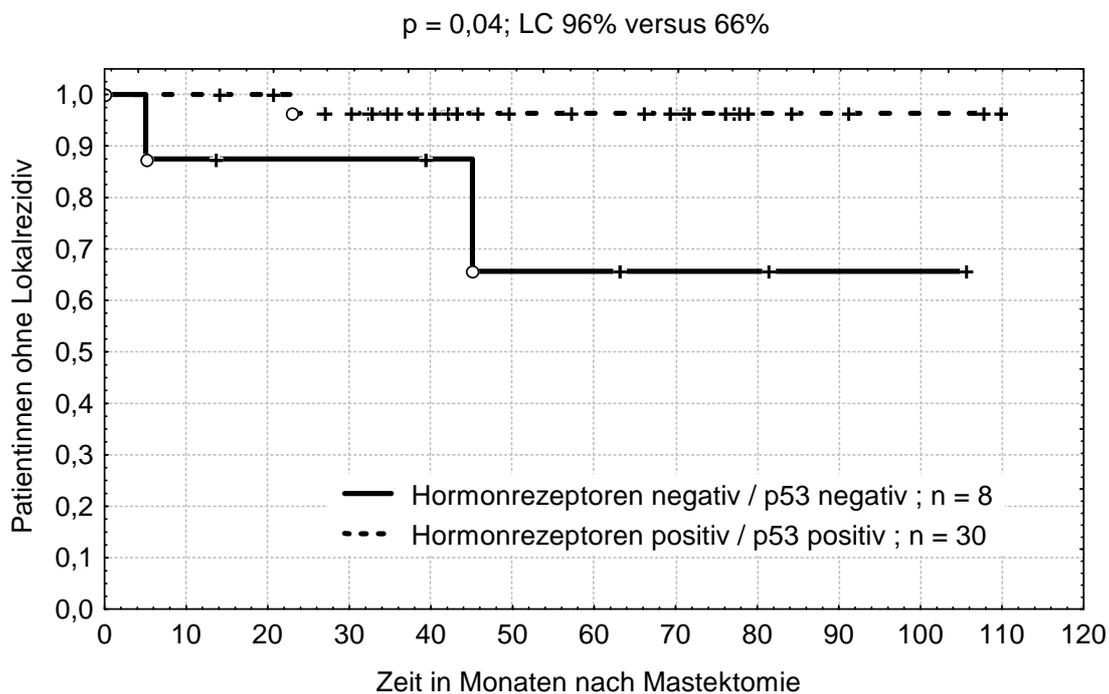


Abbildung 22: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit von Hormonrezeptoren und p53

Legende: Absolute lokale Tumorkontrolle = Gesamtzahl an Patientinnen ohne Lokalrezidiv
 Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

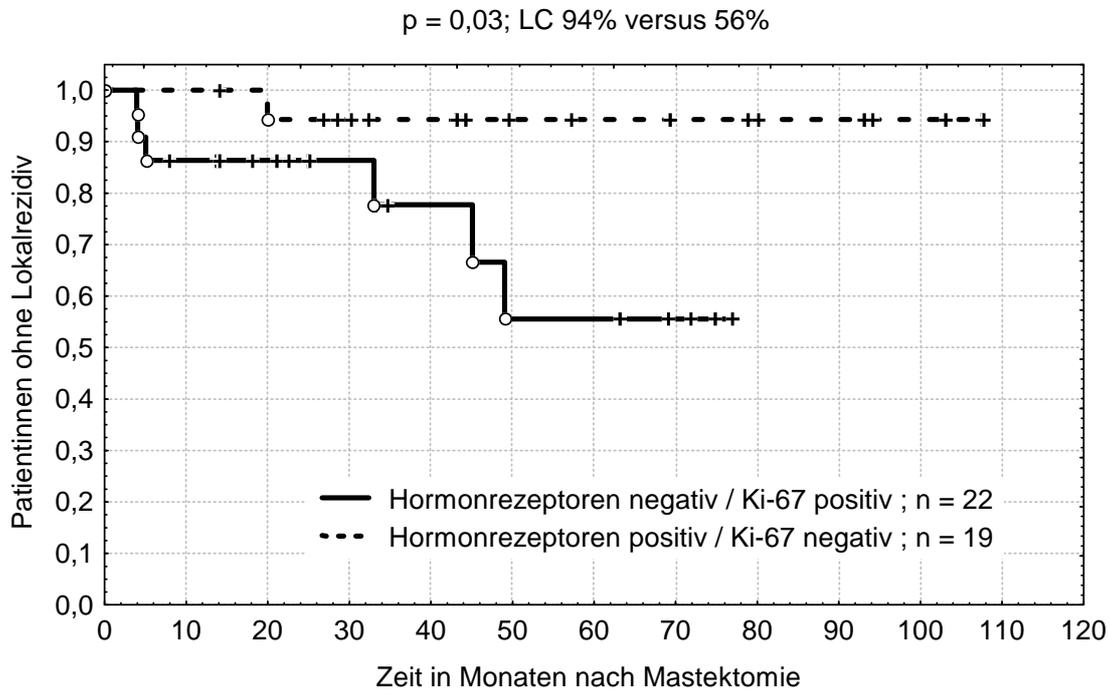


Abbildung 23: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit von Hormonrezeptoren und Ki-67

Legende: Absolute lokale Tumorkontrolle = Gesamtzahl an Patientinnen ohne Lokalrezidiv
 Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

Die sonstigen Kombinationen von Hormonrezeptoren mit c-erb-B2, VEGF und Bcl-2 ergaben keine prognostischen Hinweise für die Häufigkeit des Auftretens von Lokalrezidiven.

3.5.4.2 Abhängigkeit der lokalen Tumorkontrolle von der Kombination etablierter Prognosefaktoren mit dem Hormonrezeptorstatus

Durch die Kombination verschiedener Prognosefaktoren konnten Untergruppen mit einem stark erhöhten Lokalrezidivrisiko als Erstmanifestation einer Rezidivkrankung erkannt werden (Vgl. Abbildung 24 - 26).

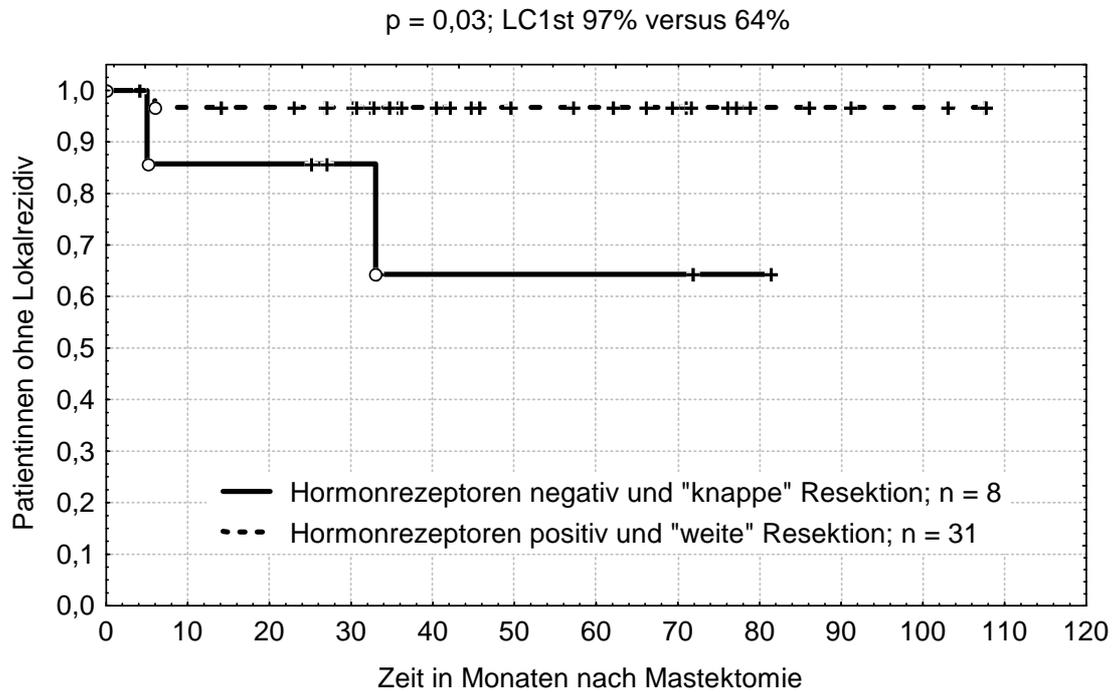


Abbildung 24: LC1st in Abhängigkeit von Hormonrezeptoren und Resektionsweite

Legende: LC1st = lokale Tumorkontrolle, falls kein Lokalrezidiv als Erstmanifestation einer Rezidivkrankung auftrat

Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

Die gleichen Häufigkeiten für LC1st konnten bei Vergleich der Patientinnengruppen hormonrezeptorpositiv und „weiter“ Resektionsrand versus hormonrezeptornegativ und „knapper“ oder „positiver“ Resektionsrand nachgewiesen werden ($p = 0,03$).

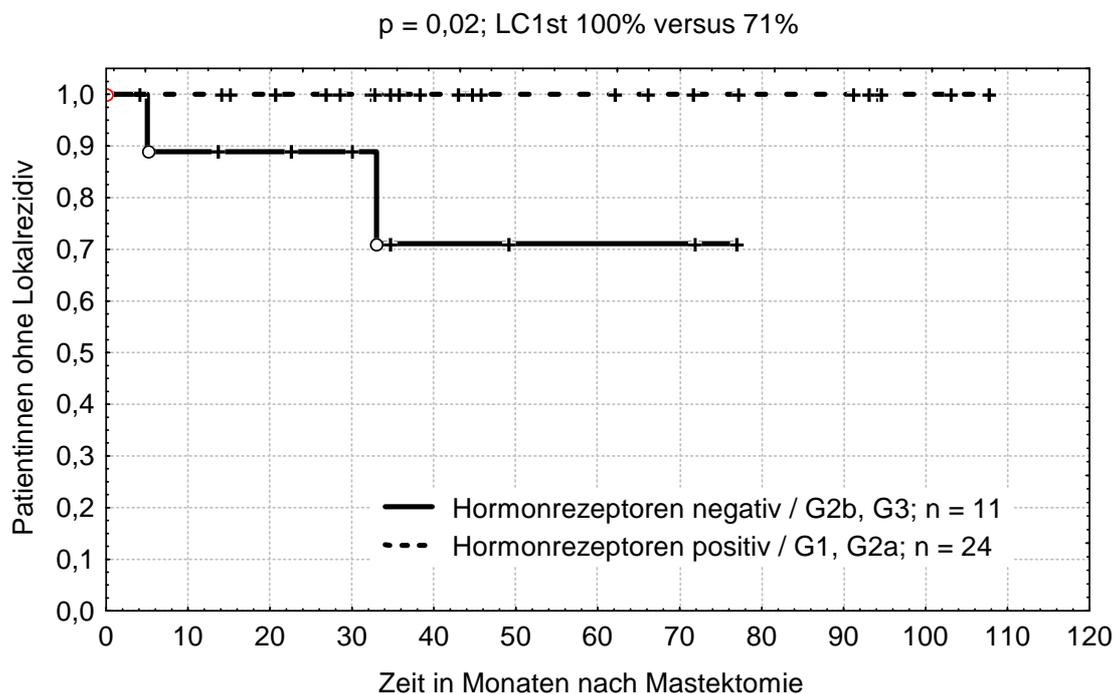


Abbildung 25: LC1st in Abhängigkeit von Hormonrezeptoren und Grading

Legende: LC1st = lokale Tumorkontrolle, falls kein Lokalrezidiv als Erstmanifestation einer Rezidivkrankung auftrat

Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

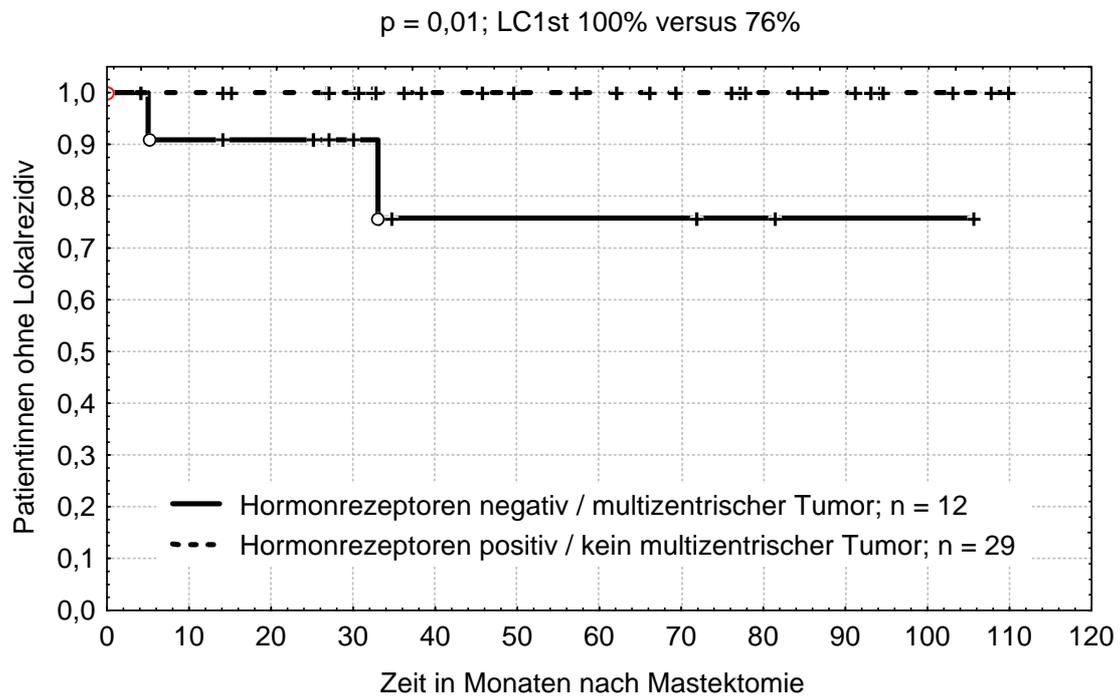


Abbildung 26: LC1st in Abhängigkeit von Hormonrezeptoren und Multizentrität

Legende: LC1st = lokale Tumorkontrolle, falls kein Lokalrezidiv als Erstmanifestation einer Rezidivkrankung auftrat

Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

Auch bezüglich der absoluten lokalen Tumorkontrolle konnten durch die Kombination zweier Faktoren Patientinnengruppen identifiziert werden, die ein besonders hohes Lokalrezidivrisiko aufweisen (Vgl. Abbildung 27 und 28).

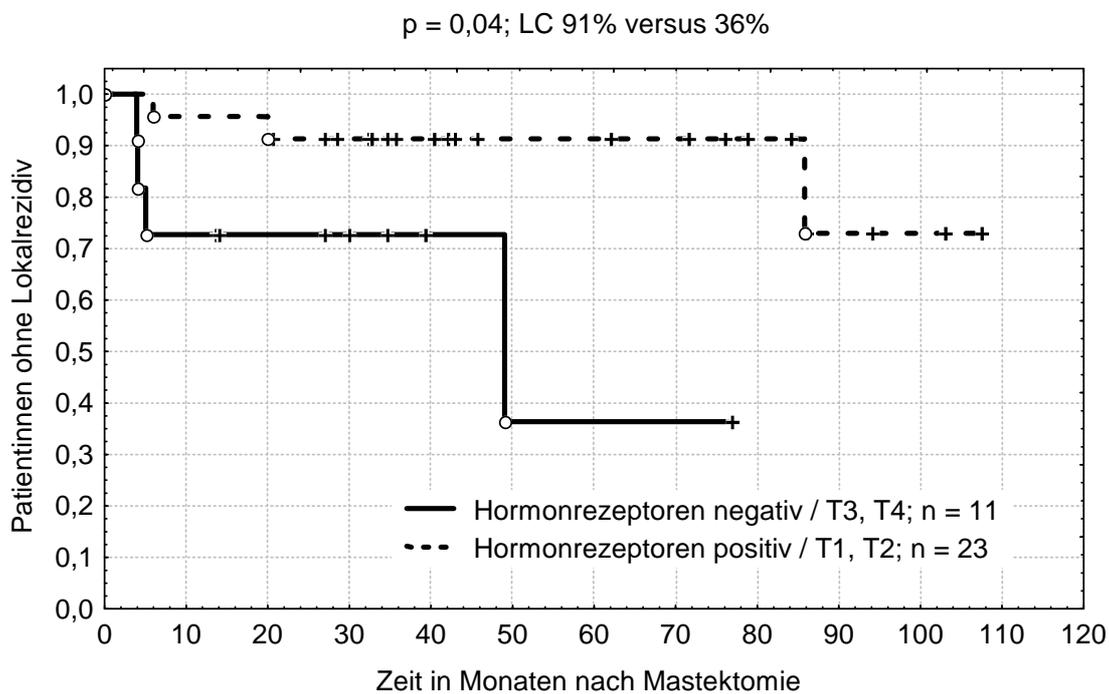


Abbildung 27: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit von Hormonrezeptorstatus und T-Klassifikation

Legende: Absolute lokale Tumorkontrolle = Gesamtzahl an Patientinnen ohne Lokalrezidiv
 Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

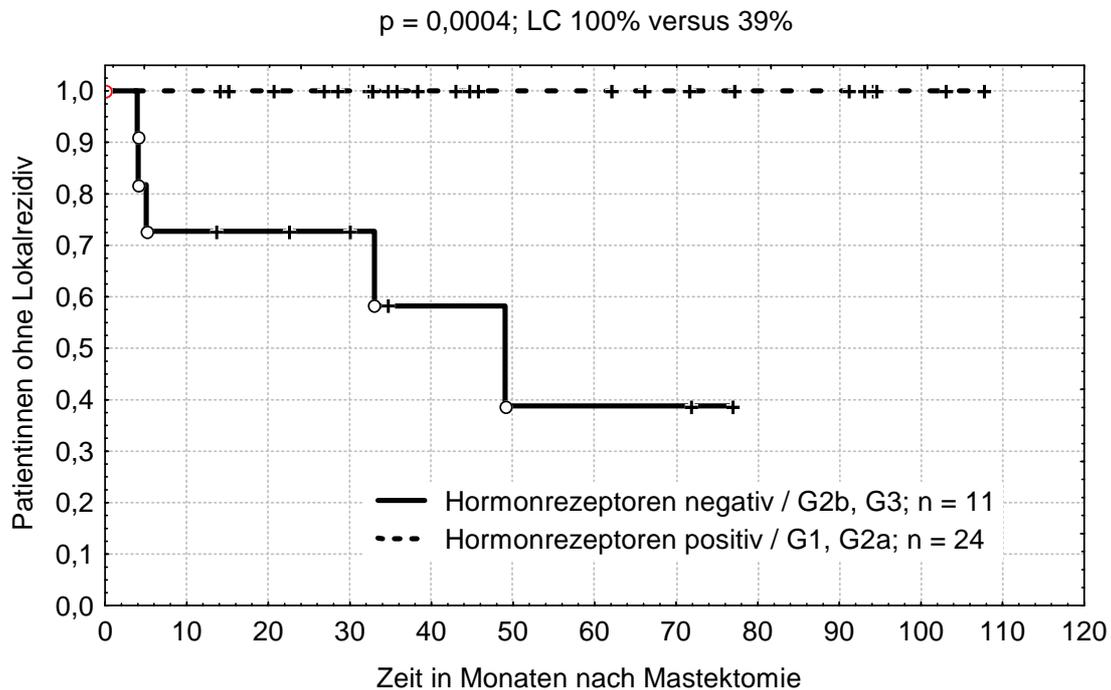


Abbildung 28: Lokale Tumorkontrolle in Abhängigkeit von Hormonrezeptoren und Grading

Legende: Absolute lokale Tumorkontrolle = Gesamtzahl an Patientinnen ohne Lokalrezidiv
 Offene Kreise entsprechen Ereignissen, Striche markieren zensierte Beobachtungen

Bei allen anderen durchgeführten Kombinationen von Prognosefaktoren konnte bezüglich LC1st oder der absoluten lokalen Tumorkontrolle kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. Dabei wurden folgende Faktoren kombiniert: Hormonrezeptoren mit T und N der TNM-Klassifikation nach UICC, mit der Tumorgöße $< / \geq 5$ cm, mit der Anzahl der befallenen Lymphknoten, mit dem Level der Lymphknotenmetastasierung und dem Vorhandensein einer Lymphangiosis carcinomatosa oder einer Lymphangiosis cutis sowie mit multifokalem Wachstum des Primärtumors. Zusätzlich wurden Gruppen von Patientinnen mit Tumorklassifikation T1, T2 mit positiven oder negativen Hormonrezeptoren verglichen sowie Patientinnen mit gut differenziertem Primärtumor (G1, G2a) und keiner Lymphangiosis carcinomatosa den Patientinnen mit schlecht differenziertem oder undifferenziertem Tumor (G2b, G3) und nachweislicher Lymphangiosis carcinomatosa gegenübergestellt.

4 Diskussion

4.1 Strahlentherapie nach radikaler Mastektomie

4.1.1 Einfluss der Strahlentherapie nach modifiziert radikaler Mastektomie auf Lokalrezidivrisiko und Überleben

Die Metaanalyse der Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group zur Frage des Stellenwertes der Strahlentherapie nach brusterhaltender Therapie, einfacher Mastektomie oder modifiziert radikaler Mastektomie umfasst 40 prospektive, randomisierte Studien, die zwischen 1977 und 1988 begonnen wurden. Sie konnte in einem sehr heterogenen Patientenkollektiv eine Verbesserung der Lokalrezidivrate und des krankheitsfreien Überlebens für die nach Mastektomie bestrahlten Patientinnen zeigen, bezüglich des Gesamtüberlebens konnte jedoch nach 10 Jahren [EBC 1995] und nach 20 Jahren [EBC 2000] kein Vorteil für die Postmastektomie-Bestrahlung nachgewiesen werden. Unter anderem wurde der Überlebensvorteil der Patientinnen, die zusätzlich eine Strahlentherapie erhalten hatten, durch einen Anstieg nicht-tumorbedingter Todesursachen, z.B. durch eine erhöhte kardiale Morbidität, aufgewogen.

Der Vergleich heutiger Therapieergebnisse mit diesen Studien, die in den 70er bis 90er Jahren begonnen wurden, erweist sich jedoch als äußerst schwierig, da das Patientinnenkollektiv dieser Studien insgesamt sehr heterogen war. So wurden Unterschiede in den Operationsmethoden, der axillären Dissektion, der Anzahl der befallenen Lymphknoten und weitere Prognosefaktoren nicht berücksichtigt, und bei den Patientinnen wurde, im Gegensatz zu heutigen Therapieschemata, keine Systemtherapie durchgeführt. Dazu kommt, dass gerade die Strahlentherapie einen enormen Fortschritt in Sachen Verträglichkeit und Reduktion der therapiebedingten Spätreaktionen gemacht hat. So konnte die kardiale Toxizität bei Bestrahlung der parasternalen Lymphknoten soweit gesenkt werden, dass sie keinen Einfluss mehr auf die Therapieentscheidung haben sollte [NIX 1998, OVE 1997, OVE 1999, RAG 1997, REC 2001).

In drei großen und randomisierten Studien aus Dänemark und Kanada wurden Patientinnen in Stadium II und III auf Unterschiede bezüglich der Lokalrezidivrate und des Überlebens, abhängig von einer Postmastektomie-Bestrahlung, untersucht. Davon beschäftigten sich zwei Studien mit prämenopausalen Patientinnen mit adjuvanter CMF-Chemotherapie (1708 und 318 Patientinnen) und eine Studie mit postmenopausalen Patientinnen mit adjuvanter Tamoxifenbehandlung (1375 Patientinnen) [OVE 1997, OVE 1999, RAG 1997]. Für die bestrahlten Patientinnen wurden eine erhebliche Verminderung der Lokalrezidivrate und ein eindeutiger Überlebensvorteil von 8 - 10 % nach 10 Jahren festgestellt. Dieser Vorteil konnte konstant über einen Zeitraum von bis zu 15 Jahren nach Therapie nachgewiesen werden. Damit erreicht der Überlebensvorteil durch die postoperative Strahlentherapie eine Größenordnung, die mit dem Überlebensvorteil nach einer adjuvanten medikamentösen Therapie vergleichbar ist.

Prospektive, randomisierte Studien aus Oslo und Stockholm weisen in die gleiche Richtung [ARR 1995, AUQ 1992], und auch in einer retrospektiven Analyse mit 618 Hochrisiko-Patientinnen zeigte sich ein eindeutiger Überlebensvorteil nach durchgeführter Radiotherapie [DIA 1998].

Einerseits können die Ergebnisse dieser Studien für aktuelle Therapieentscheidungen nicht anders interpretiert werden, als dass die Strahlentherapie nach Mastektomie einen eindeutigen Überlebensvorteil bei lokal fortgeschrittenen Tumoren mit sich bringt. Andererseits dürfen, aufgrund der hohen Rezidivraten in den randomisierten Studien im Behandlungsarm ohne Radiotherapie (25 - 30 %) und der für heutige Verhältnisse nur unzureichenden Systemtherapien, jedoch auch diese Daten nicht unkritisch betrachtet werden. So waren sie in jüngerer Vergangenheit schon Gegenstand heftiger Kritik, wobei sich die Kritik nur auf sehr kleine, teils selektionierte Patientinnengruppen bezog und damit zum Teil sicher nicht begründet war [ELT 1998, EVA 1998, GOL 1998, RAF 1998, WOL 1998].

Vergleichbare Patientenkollektive wiesen Lokalrezidivraten von 15 – 20 % auf [FIS 1995, GOL 1998, MOR 1997, REC 1999]. In unserer retrospektiven Auswertung konnte ein Lokalrezidivrisiko - Lokalrezidiv als Erstmanifestation einer Rezidivkrankung - von ungefähr 7 % nach 5 Jahren nachgewiesen werden.

Der Zeitraum bis zum Auftreten der Lokalrezidive nach Mastektomie beträgt in unserer Analyse im Median 20 Monate und ist vergleichbar mit den Daten in der Literatur, bei denen im Durchschnitt ca. 2 Jahre angegeben werden [SAU 2000].

Zusammenfassend kann hervorgehoben werden, dass eine Standard-Strahlentherapie nach Mastektomie bei Vorliegen bestimmter Risikofaktoren das Lokalrezidivrisiko von 30 % auf ungefähr 10 % senkt und infolgedessen auch die Gesamtüberlebenschancen der Patientinnen erhöht werden.

4.1.2 Prognostische Bedeutung von Brustwandrezidiven beim Mammakarzinom nach Postmastektomie-Bestrahlung

Ein lokales Rezidiv der Brustwand nach Mastektomie und Strahlentherapie ± Systemtherapie hat nicht nur kosmetische Folgen und einen negativen Einfluss auf die Lebensqualität der Patientinnen [MAH 1990], sondern wurde in der Zwischenzeit auch als prognostisch ungünstiger Faktor für das fernmetastasenfreie und das Gesamtüberleben der Patientinnen erkannt.

Patientinnen mit Lokalrezidiv haben trotz Nachresektion und Bestrahlung ein signifikant erhöhtes Risiko, Fernmetastasen zu entwickeln und an den Folgen ihrer Mammakarzinomerkrankung zu versterben, als Frauen ohne lokoregionäres Rezidiv [ARR 1995, ARR 1996, AUQ 1992, BUD 1998, COW 1998, DIA 1998, EBC 1998a, EBC 1998b, EBC 2000, FIS 1995, HAR 1987, MOR 1997, RAG 1997, REC 1995, SAU 1996a, SAU 1998, TAN 1998, TUB 1992, VAL 1999, WIN 1997]. Eine Erklärung hierfür ist die sekundäre Metastasierung durch verbliebenes Tumorgewebe oder das Rezidiv mit der Entstehung von Metastasen, die zum Zeitpunkt der Diagnosestellung noch nicht vorhanden waren [ARR 1995, COW 1998, TUB 1992, HÖL 2001].

Die optimale lokale Kontrolle beim Mammakarzinom scheint somit wichtiger zu sein als noch in jüngerer Zeit angenommen. Sie ist eine der Voraussetzungen für eine kurative Behandlung lokal fortgeschrittener Mammakarzinomerkrankungen.

Durch diese Erkenntnis erfährt die Strahlentherapie als effektivstes nicht operatives und nebenwirkungsarmes Verfahren bei der lokalen Tumorthherapie eine Aufwertung, da eine alleinige Systemtherapie, möglicherweise wegen der oft zu geringen

Anreicherung in narbigem Gewebe und der Haut, keine adäquate lokale Tumorkontrolle gewährleistet (ELL 1996, JAI 1997, REC 1995].

4.1.3 Indikationen für die Strahlentherapie der Brustwand nach modifiziert radikaler Mastektomie

Nach der modifizierten radikalen Mastektomie ist eine Strahlentherapie heute immer dann indiziert, wenn bestimmte Risikofaktoren für ein lokoregionäres Rezidiv vorliegen. Übereinstimmend wird von der American Society of Clinical Oncology [REC 2001] und der Deutschen Gesellschaft für Senologie [SAU 2000] eine Indikation zur Bestrahlung bei einem Befall > 3 Lymphknoten und bei operablen T3-/T4-Tumoren gesehen. Bei T1-/T2- Tumoren, 1-3 befallene Lymphknoten und für Patientinnen > 50 Jahre [EBC 1995] muss individuell und unter Berücksichtigung weiterer Risikofaktoren die Entscheidung für oder gegen eine Bestrahlung getroffen werden.

Im deutschen Konsensus zur postoperativen Strahlentherapie nach Mastektomie von 2000 werden verschiedene Faktoren als gesicherte oder mögliche Indikationen für eine Postmastektomie-Bestrahlung empfohlen:

Gesicherte Indikationen:

- T3-/T4- Karzinome
- T2-Karzinome > 3cm
- Multizentrisches Tumorwachstum
- Lymphangiosis carcinomatosa oder Hämangiosis carcinomatosa
- Befall der Pektoralisfaszie oder Sicherheitsabstand < 0,5 cm
- R1-/R2- Resektion
- > 3 befallene axilläre Lymphknoten

Mögliche, aber noch nicht gesicherte Indikationen:

- Multifokalität

- Extensive intraduktale Komponente (EIC)
- Hormonrezeptor-Negativität
- Malignitätsgrad G3
- mehrere, nicht im Gesunden erfolgte Biopsien
- diffuse Mikrokalzifikationen
- 1 - 3 befallene axilläre Lymphknoten
- Alter < 35 Jahre

Die Statements der aktuellen S3-Leitlinie der Deutschen Krebsgesellschaft sind deutlich zurückhaltender und empfehlen die postoperative Radiotherapie nach Mastektomie bei nicht ausreichender Resektion (R1/R2-Resektion) im Gesunden, axillärem Lymphknotenbefall mit ≥ 4 positiven Lymphknoten und bei pT3/4 Karzinomen. Um weitere mögliche Indikationen zu sichern, besteht weiterhin Studienbedarf.

In den Richtlinien der American Society of Clinical Oncology [REC 2001] wurden zum Beispiel keine Empfehlungen ausgesprochen, inwiefern die Faktoren Lymphangiosis oder Hämangiosis carcinomatosa, Grading des Tumors, Her-2/neu-Expression, p53-Expression, positiver Hormonrezeptorstatus und R1-/R2-Resektion die Entscheidung für eine Bestrahlung nach Mastektomie beeinflussen sollen. Auch für das Patientinnenalter, den Menopausenstatus und die Unterschiede in chirurgischer und systemischer Therapie wurden keine Aussagen gemacht.

In Tabelle 12 sind Studien, die die Auswirkungen einer Postmastektomie-Bestrahlung in Abhängigkeit von der Anzahl befallener Lymphknoten untersuchen, im Vergleich dargestellt.

Tabelle 12: Ergebnisse der adjuvanten Strahlentherapie nach Mastektomie in Abhängigkeit von befallenen axillären Lymphknoten

Studie	Patienten	Follow-up	N +	Lokoregionäre Rezidive		krankheitsfreies Überleben		Gesamtüberleben	
	[Anzahl]	[Monate]	[Anzahl]	ST	ST + XRT	ST	ST + XRT	ST	ST + XRT
Dana Faber Cancer Institute 1987	83	53	1-3 N+	5	2	75	79	85	77
Glasgow 1986	141	63	1-3 N+	?	?	54	63*	68†	76†
British Columbia 1997	183	150	1-3 N+	33	13	49 [‡]	63 [‡]	?	?
Danish Breast Cancer Group 82c 1999	794	123	1-3 N+	31	6	31	44	44	55
Danish Breast Cancer Group 82b 1997	1061	114	1-3 N+	30	7*	39	54*	54	62*
Dana Faber Cancer Institute 1987	123	45	≥4 N+	20	6	53	49	63	59
Glasgow 1986	72	63	≥4 N+	?	?	22	33*	46†	54†
British Columbia 1997	112	150	≥4 N+	46	21*	20 [‡]	33*, [‡]	?	?
Danish Breast Cancer Group 82c	448	123	≥4 N+	46	11	6	18	17	24
Danish Breast Cancer Group 82b	510	114	≥4 N+	42	14*	14	27*	20	32*
South-Eastern Cancer Study Group	295	120	≥4 N+	23	13*	38	51*	44	55

XRT = Strahlentherapie, ST = Systemtherapie, N+ = befallene axilläre Lymphknoten, ? = Ergebnisse nicht publiziert, [‡] Fernmetastasenfreies Überleben nach 15 Jahren, * Unterschiede zwischen XRT und keiner XRT statistisch signifikant, $p \leq 0,05$, † krankheitsspezifisches Überleben

4.2 Prognosefaktoren für das Mammakarzinom

Differenzierungen der Mammakarzinomkrankung, wie TNM-Klassifikation, Malignitätsgrad (Grading), histologischer Typ und Hormonrezeptorstatus, konnten in verschiedenen Konsensusarbeiten als Prognosefaktoren für fernmetastasenfreies- und Gesamtüberleben nachgewiesen werden [FIT 2000, GRA 1997] und werden heute bei der Entscheidung für die bestmögliche Therapie für jede Patientin herangezogen. Anzahl der Mitosen [FIT 2000] und Patientinnenalter $< / \geq 35$ Jahre [GRA 1997] wurden in je einer Konsensusarbeit als etabliert angesehen.

Von diesen Faktoren wurde der Nodalstatus als wichtigster Faktor für krankheitsfreies Überleben und Gesamtüberleben, aber auch für das Auftreten von Lokalrezidiven erkannt. Dazu kommt, dass bei Patientinnen mit positivem Nodalstatus beim Auftreten eines Lokalrezidivs von einer schlechteren Prognose ausgegangen werden muss [SAU 2000].

Weitere Prognosefaktoren, zu denen auch die von uns untersuchten Faktoren c-erb-B2, p53, Ki-67, Bcl-2 und VEGF gehören, müssen bezüglich ihrer prognostischen Aussagekraft erst noch hinreichend untersucht werden, bis sie in die Therapieentscheidungen einfließen können.

4.3 Prognosefaktoren für das Auftreten eines Lokalrezidivs

Positiver Nodalstatus, Tumorgroße, histopathologische Differenzierung, Radikalität der Operation und eventuell eine Lymphangiosis carcinomatosa sind etablierte Prognosefaktoren für ein Lokalrezidiv [OVE 1997, CUZ 1987, VAL 1978, DON 1996, MEN 1986, HOU 1994, PIN 1994, DAV 1985, ORO 1994].

Auch ein negativer Östrogenrezeptorstatus konnte in einer Studie von Recht 1999 mit einer verringerten lokalen Tumorkontrolle in Verbindung gebracht werden [REC 1999].

Extrakapsulärer Lymphknotenbefall konnte, wenn die Anzahl der befallenen Lymphknoten berücksichtigt wurde, nicht als gesicherter prognostischer Faktor für eine schlechtere lokale Kontrolle erkannt werden [DON 1993, PER 1993, PIE 1993, LEO 1995b]. Eine retrospektive Analyse aus Kanada konnte bei bestrahlten Patientinnen mit extrakapsulärem Lymphknotenbefall keinen Unterschied in der Lokalrezidivrate nachweisen, wogegen bei Patientinnen mit extrakapsulärem

Lymphknotenbefall, die nur systemische Therapie erhalten hatten, ein erhöhtes Lokalrezidivrisiko gefunden wurde [RAG 1997]. Diese Studienergebnisse weisen darauf hin, dass die strahlentherapeutische Behandlung möglicherweise die Bedeutung von Risikofaktoren für ein Lokalrezidiv, wie z. B. extrakapsulärer Lymphknotenbefall, beeinflusst.

Risikopatientinnen für das Auftreten eines Lokalrezidivs trotz radikaler Mastektomie und Strahlentherapie

In dieser Auswertung wurden Patientinnen identifiziert, die trotz einer umfassenden lokalen Therapie, nämlich der modifiziert radikalen Mastektomie und nachfolgender Strahlentherapie, ein Lokalrezidiv entwickelten. Die vorliegende Arbeit ist bezüglich der bekannten etablierten Risikofaktoren, ein Lokalrezidiv zu entwickeln [OVE 1997/1999], im Sinne einer Qualitätskontrolle zu sehen. Zusätzlich wurden neue, noch nicht allgemein etablierte Faktoren auf ihre Prognosefähigkeit untersucht.

Um dabei Lokalrezidive zu identifizieren, die durch das potenzielle Setzen von Fernmetastasen relevant für das Gesamtüberleben werden, wurde die Patientinnengruppe LC1st, d.h. Auftreten eines Lokalrezidivs als Erstmanifestation einer Rezidivkrankung, separat ausgewertet. Da die Gesamtzahl an Lokalrezidiven als Erstmanifestation eines Rezidivs nur n = 6 beträgt und keine p-Wert-Korrekturen für multiple Tests durchgeführt wurden, können die statistischen Ergebnisse nur eingeschränkt bewertet werden. Für die Auswertung aller aufgetretenen Lokalrezidive wurden zusätzlich die zeitgleich mit oder nach einer Manifestation von Fernmetastasen aufgetretenen Lokalrezidive berücksichtigt. Ihre Bedeutung für das Gesamtüberleben der Patientinnen verliert jedoch im Vergleich mit der aufgetretenen Fernmetastasierung an Gewicht.

Lokale Tumorkontrolle als Erstmanifestation eines Rezidivs, LC1st

Obwohl nur eine kleine Anzahl an Ereignissen erfasst wurde, konnten Patientinnen identifiziert werden, die trotz postoperativer Thoraxwandradiatio ein signifikant erhöhtes Risiko für ein Lokalrezidiv als Erstmanifestation eines Rezidivs hatten. Dazu gehörten Patientinnen, deren Primärtumor einen Durchmesser ≥ 5 cm oder ein multizentrisches Wachstum aufwies oder bei denen die modifiziert radikale Mastektomie mit „knappem“ oder „positivem“ Resektionsrand durchgeführt wurde. Der knappe oder positive Resektionsrand als Risikofaktor für das Auftreten von

Lokalrezidiven ist aus mehreren Studien vor allem nach brusterhaltender Therapie bekannt [SAL 1996, SIN 2002].

In den Studien von Overgaard et al. aus den Jahren 1997 und 1999 ist eine erhöhte Lokalrezidivrate bei G3-Tumoren, Tumorgröße > 5 cm und mehr als 3 befallenen Lymphknoten gezeigt worden [OVE 1997/1999]. Auch in unserer Analyse zeigte die Gruppe von Patientinnen, die eine Kombination von negativem Hormonrezeptorstatus mit schlechter histopathologischer Differenzierung (G2b/G3) ihres Tumors aufwies, eine Lokalrezidivrate von > 30 %. Der Lymphknotenstatus war statistisch nicht signifikant.

Fazit sollte sein, dass bei allen Patientinnen mit mehreren der oben genannten Risikofaktoren eine intensivierete Lokalthherapie, zum Beispiel im Sinne einer Dosisescalation, erwogen werden sollte, um letztendlich die Sterblichkeit aufgrund der erhöhten Lokalrezidivrate zu senken.

Absolute lokale Tumorkontrolle

Ein signifikant erhöhtes Risiko, ein Lokalrezidiv zu entwickeln, konnte für Patientinnen gezeigt werden, deren Erkrankung mindestens eines der folgenden Merkmale aufwies, wobei die Statistik hier auf 17 Ereignissen basiert:

Tumor ≥ 5 cm, multizentrisches Tumorwachstum, niedrige histopathologische Differenzierung, Lymphangiosis carcinomatosa und Lymphangiosis cutis, negativer Hormonrezeptorstatus, axillärer Lymphknotenbefall, Lymphknotenbefall mit Kapseldurchbruch, > 3 befallene Lymphknoten oder Lymphknotenbefall in Level II oder III. Auch bei durchgeführter „knapper“ Resektion oder postoperativ verbliebenem Resttumor wurde ein vermehrtes Auftreten von Lokalrezidiven beobachtet. Diese Beobachtungen sind aus vielen älteren Studien bekannt, in einem Review von Strom und McNeese aus dem Jahr 1999 war eine erhöhte Lokalrezidivrate abhängig vom Stadium des Primärtumors, von dem Vorhandensein und der Ausdehnung eines lymphatischen Befalls, den zusätzlich durchgeführten Therapien und dem freien Resektionsrand [STR 1999]. Das Vorliegen von mehr als einem dieser Faktoren weist auf besonders gefährdete Patientinnengruppen hin. Zu diesen gehören Patientinnen mit T3-/T4-Tumoren mit einem negativen Hormonrezeptorstatus (91 % vs. 36 % lokale Tumorkontrolle) oder Tumoren, die eine schlechte histopathologische Differenzierung G2b/G3 (100 % vs. 39 % lokale Tumorkontrolle) aufwiesen.

4.4 C-erbB-2, p53, bcl-2, Ki-67 und VEGF:

Neue Prognosefaktoren für das Mammakarzinom?

Die Expression verschiedener Proliferationsfaktoren in neoplastischem Gewebe hat bei vielen Krebsarten, so auch beim Mammakarzinom, eine prognostische Bedeutung. Inwiefern diese prognostische Bedeutung für das Auftreten von Lokalrezidiven besteht und ob sie im Endeffekt therapierelevante Konsequenzen hat, muss noch eingehend untersucht werden.

Daher wurden in dieser Arbeit die Faktoren p53, Ki-67, c-erbB2, Bcl-2 und VEGF in einem „Central Review“ immunhistochemisch angefärbt, ausgewertet und auf ihre prognostische Bedeutung bezüglich Lokalrezidivrate, Fernmetastasierung und Überleben der mastektomierten und bestrahlten Patientinnen hin untersucht.

Speziell das Auftreten von Lokalrezidiven wurde untersucht, da dies in vorangegangenen Studien häufig nicht berücksichtigt worden war, für das Überleben und die Lebensqualität der Patientinnen aber von großer Bedeutung ist.

4.4.1 c-erbB-2/Her-2/neu

Was ist c-erbB-2 oder Her-2/neu?

Her-2/neu ist das Protein-Produkt von c-erbB-2 und gehört zur Gruppe der EGF-Rezeptoren. Es stellt damit als Transmembranprotein mit intrinsischer Tyrosin-Kinase-Aktivität einen Rezeptor für eine Gruppe von Peptiden dar, die Zellwachstum und Zellteilung stimulieren. Eine Überexpression dieses Proteins beruht nach heutiger Kenntnis auf Genamplifikation von c-erbB-2 und kann bei ca. 20 - 30 % aller Mammakarzinom-Patientinnen nachgewiesen werden. Die c-erbB-2-Bestimmung hat dadurch in neuerer Zeit an Bedeutung gewonnen, dass eine Anti-Her-2-Therapie mit dem Wirkstoff Trastuzumab (Herceptin®) möglich geworden ist.

Auswirkung von c-erbB-2-Amplifikation auf Gesamtüberleben und krankheitsfreies Überleben

Die ersten Studien, die einen möglichen prognostischen Zusammenhang von c-erbB-2-Amplifikation mit einem kurzen krankheitsfreien und Gesamtüberleben untersuchten, wurden 1987 und erneut 1989 von Slamon et al. durchgeführt. Bei nodal-positiven Patientinnen konnte ein Zusammenhang von c-erbB-2-Amplifikation und einem kurzen krankheitsfreien und Gesamtüberleben nachgewiesen werden, nicht jedoch bei nodal-negativen Frauen [SLA 1987, SLA 1989, THO 1989].

Versuche, diese Ergebnisse zu replizieren, hatten nur zum Teil Erfolg. Es gab Studien, in denen eine c-erbB-2-Überexpression als unabhängiger Prognosefaktor nachgewiesen werden konnte [WIN 1991, PAT 1991], und Studien, in denen kein signifikanter Zusammenhang gefunden wurde [BER 1992, ALI 1988, CLA 1991, TSU 1990, BOR 1990]. Keine dieser Studien konnte jedoch eine prognostische Bedeutung von c-erbB-2-Amplifikation für ein verkürztes krankheitsfreies oder Gesamtüberleben bei nodal-negativen Patientinnen nachweisen.

Die Ergebnisse der immunhistochemischen Färbung, bei der das Protein in der Zellwand nachgewiesen wird, sind vergleichbar mit dem direkten Nachweis der Genamplifikation von c-erbB-2. Eine 3-fach positive Färbung geht regelmäßig mit einer Genamplifikation einher, zusätzlich weist ungefähr jede 4. Patientin mit einem 2-fach positiven immunhistochemischen Score eine Genamplifikation auf. Daher wird in den meisten Literaturangaben empfohlen, nur Patientinnen mit einer 3-fach positiven Bewertung der Membranfärbung auf Her-2/neu als positiv zu betrachten [SCH 2001, RAA 2001, ASCO 2000), so, wie es auch in der vorliegenden Auswertung durchgeführt worden ist.

Jedoch konnte auch mit der immunhistochemischen Färbung in nur zwei von mehr als 11 Studien c-erbB-2 als unabhängiger Prognosefaktor bei nodal-negativen Patientinnen nachgewiesen werden [KAL 1991, RUD 1999] (siehe Tabelle 14).

Übereinstimmend mit den Literaturangaben, konnten bei unserem Patientinnenkollektiv bei c-erbB-2-positiven Patientinnen ein im Cox'F-Test signifikant verkürztes krankheitsspezifisches und ein Trend bezüglich eines verkürzten Gesamtüberlebens beobachtet werden.

Auswirkung von c-erbB-2-Amplifikation auf das Auftreten von Lokalrezidiven

Zum Zusammenhang von c-erbB-2-Amplifikation und dem Lokalrezidivrisiko bei Mammakarzinom-Patientinnen finden sich in der Literatur nur wenige Quellen.

In einer Studie von Stal et al. mit 152 prämenopausalen Patientinnen konnte bei mastektomierten Patientinnen mit c-erbB-2-Amplifikation ein erhöhtes Risiko für Lokalrezidive gezeigt werden, wenn diese statt einer Bestrahlung nur Chemotherapie erhielten [STA 1995].

1996 konnte zusätzlich in einer Fall-Kontroll-Studie von Haffty et al. mit 36 Patientinnen gezeigt werden, dass Patientinnen mit c-erbB2-Amplifikation nach

brusterhaltender Operation und Bestrahlung eine höhere Lokalrezidivrate aufwiesen als Patientinnen ohne Genamplifikation [HAF 1996].

Diese Studienergebnisse zeigen die Tendenz, dass eine c-erbB-2-Genamplifikation mit einem erhöhten Lokalrezidivrisiko einhergeht, falls diese betroffenen Patientinnen keine adaptierte aggressive lokale Therapie in Form einer Bestrahlung erhalten.

Wie bei Pierce et al., der keine Veränderung der Lokalrezidivrate abhängig von der c-erbB-2-Expression feststellen konnte, wurde auch in unserer Analyse, bei der alle Patientinnen eine Radiotherapie erhalten hatten, kein Zusammenhang zwischen c-erbB-2-Expression und der lokalen Kontrolle nachgewiesen [PIE 1994]. Zusätzlich stellte sich c-erbB-2 auch in Kombination mit dem Hormonrezeptorstatus der Patientinnen nicht als signifikanter Prognosefaktor für LC1st heraus.

Aufgrund unserer Fallzahlen und Nachbeobachtungszeiten kann mit 95 % Wahrscheinlichkeit ein statistisch signifikanter Unterschied von größer 11,3 % zwischen Her-2/neu-positiven und Her-2/neu-negativen Tumoren bezüglich der lokalen Tumorkontrolle ausgeschlossen werden.

Tabelle 13: c-erbB-2-Überexpression in Bezug auf die Lokalrezidivrate

Studie	Nodal-status	n	Bestimmungsmittels	Follow-up	Therapie	Lokalrezidivrate
DURST Diss.	N+/N-	105	Immun-histochemie	60	RM+XRT+/-CHX	n.s.
STA 1995	N+/N-	152	Flow cytometry	84	RM+XRT	n.s.
					RM+CHX	Vermehrt ^(*) bei c-erbB2+
HAF 1996	N+/N-	36	Immun-histochemie	>120	BET+XRT	Vermehrt ^(*) bei c-erbB2+
PIE 1994	N+/N-	107	Immun-histochemie	92	BET+CHX	n.s.

Diss.=Dissertation, N+=nodalpositiv, N-=nodalnegativ, RM=radikale Mastektomie, XRT=Bestrahlung, CHX=Chemotherapie, BET=brusterhaltende Therapie, ^(*)= p<=0,05, n.s.=statistisch nicht signifikant unterschiedlich

Tabelle 14: Studien zum prognostischen Wert von c-erbB-2 beim Mammakarzinom, Bestimmung mittels Immunhistochemie

Studie	Nodal-status	n	Follow-up in Monaten	Univariate Analyse			Multivariate Analyse		
				Lokal-rezidive	Krankheitsfreies Überleben	Gesamtüberleben	Lokal-rezidive	Krankheitsfreies Überleben	Gesamtüberleben
DURST Diss.	N+/N-	105	60	n.s.	n.s.	p=0,07 im Cox'F-Test	n.s.	n.s.	n.s.
MCC 1991	N-	113	48	n.d.	n.d.	n.s.	n.d.	n.d.	n.d.
KAL 1991	N-	174	118	n.d.	n.d.	Verkürzt ^(*) bei Her2+	n.d.	n.d.	Verkürzt ^(*) bei Her2+
RUD 1999	N-	356	99	n.d.	Verkürzt ^(*) bei Her2+	Verkürzt ^(*) bei Her2+	n.d.	Verkürzt ^(*) bei Her2+	Verkürzt ^(*) bei Her2+
REE 2000	N-	613	120	n.d.	n.s.	n.s.	n.d.	n.d.	n.d.
ALL 1992	N-	453	61	n.d.	n.s.	n.s.	n.d.	n.d.	n.d.
NOG 1992	N-	151	?~60	n.d.	n.s.	n.s.	n.d.	n.s.	n.s.
GUS 1992	N-	760	42	n.d.	n.s.	Verkürzt ^(*) bei Her2+	n.d.	n.s.	n.s.
PRE 1993	N-	210	108	n.d.	Verkürzt ^(*) bei Her2+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BIA 1993	N-	230	>84	n.d.	Verkürzt ^(*) bei Her2+	Verkürzt ^(*) bei Her2+	n.d.	n.s.	n.s.
THO 1989	N-	141	102	n.d.	n.s.	n.s.	n.d.	n.d.	n.d.
LOV 1991	N-	250	120	n.d.	n.d.	n.s.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d.= nicht durchgeführt, n.s.= nicht signifikant ($p > 0,05$), ^(*)= $p \leq 0,05$

Aus den aufgelisteten Ergebnissen muss man schließen, dass der prognostische Wert der c-erbB-2-Bestimmung im Vergleich zu anderen Prognosefaktoren, wie z.B. einem positiven Nodalstatus, bezüglich des Verlaufs der Erkrankung nur eingeschränkt ist. Abschließend kann auch nicht eindeutig gesagt werden, ob Her-2/neu-Überexpression in die Entscheidung für eine lokale Tumorthherapie mit einbezogen werden sollte oder nicht. Größere prospektive Studien zur Validierung stehen noch aus.

4.4.2 p53

Was ist p53?

p53 ist ein Tumorsuppressorgen, dessen Proteinprodukt normalerweise zu einem Verbleib der Zellen in der G1-Phase des Zellzyklus (DNA-Reparatur), zu programmiertem Zelltod und zu Apoptose führt. All dies verhindert die Replikation und die damit verbundene Ausbreitung geschädigter DNA. Mutationen in p53 führen zum Verlust der Regulation des Zellwachstums und zu einer erhöhten Mutationsrate der DNA. Kann p53-Protein immunhistochemisch in der Zelle nachgewiesen werden, so spricht das für eine Mutation des p53-Gens, da es bei Funktionsverlust zu einer verlängerten Halbwertszeit und zur Proteinakkumulation in der Zelle kommt.

p53 ist von den bisher untersuchten Genen das am häufigsten mutierte Gen bei bösartigen Tumoren, eine Mutation kann bei ca. 15 % der in situ wachsenden und bei ca. 50 % der invasiven Mammakarzinome nachgewiesen werden.

Die häufigsten Mutationen im p53-Gen sind spontan, es gibt jedoch auch eine vererbte Form der p53-Mutation, das Li-Fraumeni-Syndrom, bei dem neben anderen soliden Tumoren eine erhöhte Inzidenz von Mammakarzinomen nachweisbar ist. Zusätzlich wird in neueren Studien untersucht, ob p53 einen Cofaktor für das BRCA1-Gen darstellt [SOB 1997].

Auswirkungen einer p53-Mutation beim Mammakarzinom auf krankheitsfreies und Gesamtüberleben

Studien mit nodal-negativen Mammakarzinom-Patientinnen haben gezeigt, dass eine p53-Überexpression häufig einen unabhängigen Prognosefaktor für einen schlechten Krankheitsverlauf darstellt [BOR 1995, BEC 1995, STE 1994, MAR 1994, MAG 1995, THO 1992, BAR 1993]. Diese Überexpression wird in der Regel bei Mutation von p53 beobachtet, die zu einem verzögerten Abbau des Proteins und damit zur

immunhistochemischen Anfärbung bei Überexpression führt. Da jedoch nicht alle Mutationen von p53 mit einer Stabilisierung des Proteins einhergehen, erfasst die immunhistochemische Messung der Überexpression nicht alle p53-Mutationen. Zusätzlich resultiert die Verwendung unterschiedlicher Antikörper im Nachweis von anderen Mutationen von p53. Daher sind differente Ergebnisse bezüglich der prognostischen Bedeutung zu erwarten. Dies bestätigen einige Studien, die p53 nicht als prognostischen Faktor erkennen konnten [HAE 1995, DOM 1994, SCH 1994, LIP 1993] (siehe Tabelle 15).

Manche der verwendeten Antikörper haben dabei eine höhere prognostische Aussagekraft (z.B. 1801) als andere, die wenig oder gar keinen prognostischen Wert besitzen (z.B. CM1) [ELL 1994].

Außerdem konnte bei Patientinnen mit p53-Mutation eine Korrelation mit einem hohen histologischen Grading und klinischer Aggressivität des Tumors nachgewiesen werden [ZEL 2000].

Neben der Immunhistochemie zur Messung von p53 beim Mammakarzinom, wurden auch andere Messmethoden untersucht, zum Beispiel die Gensequenzierung der Exons 5 - 9, in denen p53-Mutationen gehäuft auftreten.

Jedoch konnten auch hier keine einheitlichen Ergebnisse gefunden werden: Caleffi et al. konnten nach einem Follow-up von 48 Monaten bei 192 Mammakarzinomen keine Korrelation mit krankheitsfreiem oder Gesamtüberleben finden, dagegen konnte von Ellegde et al. bei 205 Mammakarzinomen ein signifikanter Zusammenhang von p53-Mutation mit einer schlechten Prognose, bestätigt in der multivariaten Analyse, gezeigt werden [CAL 1994, ELL 1993a].

In einer Studie von Peyrat et al. mit 353 Patientinnen wurde eine neue Bestimmungsmethode von p53 geprüft: Es konnte gezeigt werden, dass ein erhöhter Antikörpertiter im Serum prognostischen Wert für ein signifikant erhöhtes relatives Risiko für einen Rückfall oder ein verkürztes Überleben hatte [PEY 1995]. Eine Wiederholung dieser Studienergebnisse steht jedoch bis heute aus.

Auswirkungen einer p53-Mutation auf das Auftreten von Lokalrezidiven

Unabhängig von der Methode der p53-Bestimmung, wurden in den meisten Studien nur Gesamtüberleben und krankheitsfreies Überleben der Patientinnen bewertet. Zum Lokalrezidivrisiko konnte in einer großen Studie von Zellars et al. gezeigt

werden, dass p53-Mutation einen unabhängigen Prognosefaktor für das vermehrte Auftreten von Lokalrezidiven bei mastektomierten Patientinnen darstellte, unabhängig davon, ob eine nachfolgende Radiatio stattgefunden hatte oder nicht (22 % vs. 9 %, $p = 0,04$) [ZEL 2000].

In einer weiteren retrospektiven Studie mit prämenopausalen Patientinnen von Elkhuzen et al. konnte bei Patientinnen, die eine brusterhaltende Therapie erhalten hatten, dieses Ergebnis bestätigt werden [ELK 2000].

Im Gegensatz dazu wurde jedoch in einer Studie von Jager et al. bei mastektomierten Patientinnen der Nachweis von p53 als unabhängiger Prognosefaktor für ein vermindertes Auftreten von Lokalrezidiven gezeigt. Damit wäre p53 ein günstiger Prognosefaktor [JAG 2000].

Auch in unserer Studie, in der alle Patientinnen bestrahlt wurden, war die Gesamtzahl an Lokalrezidiven in der univariaten Analyse bei Patientinnen mit p53-Überexpression grenzwertig erniedrigt, in der multivariaten Analyse war p53-Überexpression ein signifikanter Faktor für eine verbesserte lokale Tumorkontrolle.

Aufgrund unserer Fallzahlen und Nachbeobachtungszeiten kann ein statistisch signifikanter Unterschied von größer 19,1 % zwischen p53-positiven und p53-negativen Tumoren bezüglich der lokalen Tumorkontrolle mit 95 % Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden.

Silvestrini et al., der Patientinnen, die nur eine Operation erhalten hatten mit Patientinnen verglich, die zusätzlich eine Radatio erhalten hatten, konnte lediglich bei den nicht bestrahlten Patientinnen einen Zusammenhang von p53 mit dem Auftreten von Lokalrezidiven aufzeigen [SIL 1993].

Tabelle 15: p53-Mutation und die prognostische Aussagekraft für das Auftreten von Lokalrezidiven, Bestimmung mittels Immunhistochemie

Studie	Nodalstatus	n	Follow-up in Monaten	Therapie	Lokalrezidivrate
DURST Diss.	N+/N-	105	60	OP(RM)+RT	n.s.
ZEL 2000	N+	259	62	OP(RM)+RT	Vermehrt ^(*) bei p53+
		1271		OP(RM)	Vermehrt ^(*) bei p53+
ELK 2000	N-	360	84	OP(BET)+RT	Vermehrt ^(*) bei p53+
SIL 1993	N-	139	62	OP	Vermehrt ^(*) bei p53+
		496		OP+RT	n.s.
JAG 2000	N+/N-	163	90	OP(RM)+/-RT	Erniedrigt ^(*) bei p53+

N+=nodalpositiv, N-=nodalnegativ, OP=Operation, RM=radikale Mastektomie, RT=Bestrahlung, BET=brusterhaltende Therapie, ^(*)= p<=0,05, n.s.=statistisch nicht signifikant unterschiedlich

Tabelle 16: Studien zum prognostischen Wert von p53, Bestimmung mittels Immunhistochemie

Studie	Nodal-status	n	Follow-up in Monaten	Univariate Analyse			Multivariate Analyse		
				Lokalrezidive	Krankheitsfreies Überleben	Gesamtüberleben	Lokalrezidive	Krankheitsfreies Überleben	Gesamtüberleben
DURST Diss.	N+/N-	105	60	n.s.	n.s.	n.s.	Erniedrigt ^(*) bei p53+	n.s.	n.s.
ALL1993	N-	700	54	n.d.	Verkürzt ^(*) bei p53+	Verkürzt ^(*) bei p53+	n.d.	Verkürzt ^(*) bei p53+	Verkürzt ^(*) bei p53+
ROS 1995	N+	440	119	n.d.	n.s.	n.s.	n.d.	n.s.	n.s.
MAG 1995	N-	388	118	n.d.	Verkürzt ^(*) bei p53+	Verkürzt ^(*) bei p53+	n.d.	n.s.	n.s.
HAE 1995	N-	315	127	n.d.	n.s.	n.s.	n.d.	n.s.	n.s.
ISO 1992	N-	289	104	n.d.	n.d.	Verkürzt ^(*) bei p53+	n.d.	n.d.	n.s.
SIL 1993	N-	256	72	n.d.	Verkürzt ^(*) bei p53+	Verkürzt ^(*) bei p53+	n.d.	Verkürzt ^(*) bei p53+	Verkürzt ^(*) bei p53+
GAS 1994	N-	254	62	n.s.	Verkürzt ^(*) bei p53+	Verkürzt ^(*) bei p53+	n.d.	Verkürzt ^(*) bei p53+	Verkürzt ^(*) bei p53+
DOM 1994	N-	136	>60	n.d.	n.d.	n.s.	n.d.	n.d.	n.s.
RUD 1999	N-	356	99	n.d.	Verkürzt ^(*) bei p53+	Verkürzt ^(*) bei p53+	n.d.	n.s.	n.s.
REE 2000	N-	613	>164	n.d.	n.s.	n.s.	n.d.	n.s.	n.s.

N+=nodalpositiv, N-=nodalnegativ, n.d. = nicht durchgeführt, n.s. = nicht signifikant ($p > 0,05$), ^(*) = $p \leq 0,05$

Zusammenfassend muss gesagt werden, dass ein Zusammenhang zwischen p53-Überexpression und einem schlechteren Krankheitsverlauf beim Mammakarzinom sehr wahrscheinlich ist. Aufgrund der auf verschiedene Weise durchgeführten Studien und den doch inhomogenen Ergebnissen kann jedoch bis heute keine eindeutige Empfehlung zur Anwendung von p53 in der Praxis ausgesprochen werden. Prospektive randomisierte Studien zur Validierung von p53 stehen noch aus. Auch der Einfluss einer p53-Mutation auf das Risiko, an einem Lokalrezidiv zu erkranken, oder auf die Radiosensitivität der Tumoren ist letztlich ungeklärt und bedarf weiterer Studien. Die Mehrzahl der vorliegenden Studien zeigt bei p53-Mutation eine erhöhte Lokalrezidivrate, insofern kann von einem negativen Einfluss ausgegangen werden. Die Vermutung liegt nahe, dass eine postoperative Bestrahlung als intensiviert lokale Therapie diesen Einfluss weitgehend aufhebt [SIL 1997]. Obwohl es in experimentellen Studien Hinweise gab, dass eine p53-Mutation die Zellen radioresistenter macht [MCI 1994, LEE 1993, DAH 2000], sprechen klinischen Daten beim Mammakarzinom eher nicht dafür, dass eine p53-Mutation zu einer verminderten Wirksamkeit der Radiotherapie führt [ZEL 2000].

4.4.3 Bcl-2

Was ist Bcl-2?

Das Bcl-2-Onkoprotein ist ein Apoptose-Inhibitor, der in geringen Mengen in den meisten Geweben nachgewiesen werden kann. Eine Überexpression wurde ursprünglich bei Leukämien und Non Hodgkin Lymphomen der B-Zell-Reihe gefunden. Diese Überexpression von Bcl-2 resultiert in der Regel aus einer t(14,18) Translokation und tritt bei durchschnittlich 35 - 50 % aller Tumorpatienten auf.

Unter in-vitro-Bedingungen konnte gezeigt werden, dass eine vermehrte Expression von Bcl-2 verschiedenste Zelltypen vor Stimulantien für einen Zelltod schützen kann, unter anderem auch vor Chemotherapie und Bestrahlung [ADA 1998, KUS 1998]. Auf der einen Seite wirkt dieser Schutz bei Irritationen protektiv für das Gewebe, auf der anderen kann er bei chronischer Irritation zur Karzinomentwicklung beitragen [BUD 2001, YAN 1999, OHM 1999]. Es gibt auch Untersuchungen, die zeigen, dass Bcl-2 neben den antiapoptotischen Effekten auch auf den Zellzyklus Einfluss nimmt und diesen verlangsamt. Dies könnte die Ursache dafür sein, dass eine Bcl-2-Überexpression bei einer Reihe von Tumorerkrankungen eher mit einer guten

Prognose assoziiert ist. Die diesbezüglichen Daten hierzu sind jedoch insgesamt eher heterogen [HUA 1997, BEL 2002].

Bcl-2 und sein prognostischer Wert für das krankheitsfreie und Gesamtüberleben

Studien zum prognostischen Wert von Bcl-2 bei Karzinomen fallen sehr unterschiedlich aus. Beim Mammakarzinom wurde bei der Mehrzahl der Studien eine Prognoseverbesserung bei Bcl-2-Überexpression gefunden und eine Korrelation mit günstigen Prognosefaktoren (niedrige histopathologische Differenzierung, positiver Hormonrezeptorstatus, verbessertes Ansprechen auf Tamoxifen) und damit mit einem verlängerten krankheitsfreien Überleben festgestellt [ELL 1997, VIS 1996, KYM 2001, LE 1999].

In einer Studie von Hellemans et al. 1995 konnte bei nodal-positiven Patientinnen bei Bcl-2-Negativität ein verkürztes Gesamtüberleben nachgewiesen werden, nicht jedoch bei nodal-negativen Patientinnen [HEL 1995].

Auch in unserer Analyse stellte sich eine Bcl-2-Überexpression als günstig dar, so konnte bei Patientinnen mit Bcl-2-Überexpression ein verlängertes krankheitsspezifisches Überleben gefunden werden, Gesamtüberleben und krankheitsfreies Überleben waren jedoch unverändert.

Bcl-2-Expression und die prognostische Aussagekraft für die Lokalrezidivrate

Die Bcl-2 Expression hatte in unserer Studie keine prognostische Bedeutung für die Lokalrezidivhäufigkeit. Die Fallzahlen erlauben es, einen Unterschied von größer 10,2 % zwischen Bcl-2-positiven und Bcl-2-negativen Tumoren bezüglich der lokalen Tumorkontrolle mit 95 % Wahrscheinlichkeit auszuschließen.

In den meisten Quellen findet sich eine verbesserte lokale Tumorkontrolle bei Bcl-2-Überexpression.

Wie Silvestrini et al. beobachteten, hatten von insgesamt 638 Patientinnen nur die Patientinnen eine vom Bcl-2-Status unabhängige Lokalrezidivrate, die zusätzlich eine postoperative Bestrahlung erhalten hatten. Bei den Patientinnen, die nur operativ behandelt wurden, zeigten die Patientinnen mit Bcl-2-Überexpression eine leicht erhöhte Lokalrezidivrate [SIL 1997] (siehe Tabelle 17).

Tabelle 17: Bcl-2 und die prognostische Aussagekraft für das Auftreten von Lokalrezidiven, Bestimmung mittels Immunhistochemie

Studie	Nodal-status	n	Follow-up in Monaten	Therapie	LR-Rate bei Bcl-2-Überexpression
DURST Diss.	N+/N-	105	60	OP(RM)+/-CHX+XRT	n.s.
ELK 2000	N-	356	84	OP(BET)+/-CHX+XRT	vermindert
JAG 2000	N+/N-	163	90	OP+CHX+XRT	vermindert
SIL 1997	N-	638	72	OP	Trend für erhöhte LR-Rate
				OP+XRT	n.s.

N+=nodalpositiv, N-=nodalnegativ, OP=Operation, RM=radikale Mastektomie, CHX=Chemotherapie, XRT=Bestrahlung, LR=Lokalrezidiv, n.s.=statistisch nicht signifikant unterschiedlich

Tabelle 18: Studien zum prognostischen Wert von Bcl-2, Bestimmung mittels Immunhistochemie

Studie	n	Follow-up in Monaten	Nodal-status	Univariate Analyse			Multivariate Analyse		
				Lokal-rezidive	Krankheitsfreies Überleben	Gesamtüberleben	Lokal-rezidive	Krankheitsfreies Überleben	Gesamtüberleben
DURST Diss.	105	60	N+/N-	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
VIS 1996	81	52	N+/N-	n.d.	Verkürzt ^(*) bei bcl-2-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
HEL 1995	251	91	N-	n.d.	n.s.	n.s.	n.d.	n.s.	n.s.
			N+	n.d.	Verkürzt ^(*) bei bcl-2-	Verkürzt ^(*) bei bcl-2-	n.d.	Verkürzt ^(*) bei bcl-2-	Verkürzt ^(*) bei bcl-2-
SIL 1996	240	60	N+	n.d.	Verkürzt ^(*) bei bcl-2-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
KYM 2001	130	72	N-	n.d.	Verlängert ^(*) bei bcl-2+	Verlängert ^(*) bei bcl-2+	n.d.	n.d.	n.d.
LE 1999	175	112	N+/N-	n.d.	Verlängert ^(*) bei bcl-2+	Verlängert ^(*) bei bcl-2+	n.d.	Verlängert ^(*) bei bcl-2+	Verlängert ^(*) bei bcl-2+

N+=nodalpositiv, N-=nodalnegativ, n.s.=nicht signifikant ($p > 0,05$), n.d.=nicht durchgeführt, ^(*)= $p \leq 0,05$

Zusammenfassend muss man davon ausgehen, dass eine Bcl-2-Überexpression beim Mammakarzinom einen positiven Prognosefaktor sowohl für das Überleben der Patientinnen als auch für das Auftreten von Lokalrezidiven darstellt.

Der in-vitro beobachtete Effekt der relativen Radioresistenz Bcl-2 überexprimierender Zellen konnte bei klinischen Beobachtungen damit nicht belegt werden [BUD 2001].

Die Anwendung der Bcl-2-Bestimmung in der Klinik ist jedoch nicht geklärt, da die prognostische Relevanz für ein verbessertes Überleben und vermehrtes Ansprechen auf Hormontherapie sich eher auf die Korrelation von Bcl-2 mit positiven Hormonrezeptoren und einer niedrigen histopathologischen Differenzierung sowie der Korrelation mit dem p53-Status zurückführen lässt.

4.4.4 Ki-67/MIB1

Was ist Ki-67/MIB1?

Das Ki-67-Protein ist ein Proliferationsmarker der Zellen. Dieses nukleäre Antigen wird in allen aktiven Zellphasen exprimiert (G1-, S-, G2- und M-Phase), in der G0-Phase kann es nicht nachgewiesen werden. Mit dem Antikörper MIB1 kann man immunhistochemisch seine Expression sowohl in gefrorenem als auch in paraffinfixiertem Gewebe nachweisen.

Ki-67 und das Überleben beim Mammakarzinom

Anhand des prozentualen Anteils der Ki-67-positiven Zellen versucht man Patientinnen mit guter oder schlechter Prognose zu identifizieren, wobei eine starke Ki-67-Expression häufig mit einer schlechten Prognose bezüglich des Überlebens der Patientinnen einhergeht [BRO 1996, SAH 1991, GAS 1991, GAG 1993, MOL 1997]. In der multivariaten Analyse konnten diese Ergebnisse bisher jedoch nicht immer bestätigt werden, wie die anschließende Tabelle 19 zeigt.

In unserer Auswertung konnte für Ki-67-positive Patientinnen ein verkürztes fernmetastasenfreies und krankheitsspezifisches Überleben nachgewiesen werden, Gesamtüberleben und krankheitsfreies Überleben waren nicht signifikant verändert.

Ki-67 und die Lokalrezidivrate beim Mammakarzinom

Wie auch bei den anderen Faktoren beobachtet werden konnte, ist in der Mehrzahl der Studien die prognostische Aussagekraft von Ki-67 für das Auftreten von Lokalrezidiven nicht untersucht worden. In einer Studie von Pinder et al. konnte Ki-67

nicht als unabhängiger Prognosefaktor für das Auftreten von Lokalrezidiven gefunden werden [PIN 1994]. Die vorliegende Auswertung kam zu dem gleichen Ergebnis. Die vorliegende Untersuchung schließt einen Unterschied zwischen Ki-67-positiven und Ki-67-negativen Tumoren bezüglich der lokalen Tumorkontrolle von größer 10,9 % mit 95 % Wahrscheinlichkeit aus.

Patientinnen mit negativem Hormonrezeptorstatus und Ki-67-Expression konnten als besondere Risikogruppe für das Auftreten von Lokalrezidiven nach Mastektomie und Bestrahlung identifiziert werden. Somit liegt die Annahme nahe, dass die Lokalrezidivrate bei starker Ki-67-Expression, zusammen mit dem Auftreten von anderen negativen Prognosefaktoren, erhöht ist.

Tabelle 19: Studien zum prognostischen Wert von Ki-67/MIB1, Bestimmung mittels Immunhistochemie

Studie	Nodal-status	n	Follow-up in Monaten	Univariate Analyse			Multivariate Analyse		
				Lokal-rezidive	Krankheitsfreies Überleben	Gesamtüberleben	Lokal-rezidive	Krankheitsfreies Überleben	Gesamtüberleben
DURST Diss.	N+/N-	105	60	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
VER 1993	N+/N-	129	42	n.d.	Verkürzt ^(*) bei Ki67+	Verkürzt ^(*) bei Ki67+	n.d.	n.d.	n.d.
PIN 1994	N+/N-	177	>60	n.s.	n.s.	Verkürzt ^(*) bei Ki67+	n.s.	n.s.	Verkürzt ^(*) bei Ki67+
GAG 1993	N+/N-	385	<48	n.d.	Verkürzt ^(*) bei Ki67+	n.d.	n.d.	Verkürzt ^(*) bei Ki67+	n.d.
GAS 1991	N+/N-	168	60	n.d.	Verkürzt ^(*) bei Ki67+	Verkürzt ^(*) bei Ki67+	n.d.	n.s.	n.s.
RUD 1994	N+/N-	184	73	n.d.	n.s.	n.s.	n.d.	n.s.	n.s.
BRO 1996	N-	674	72	n.d.	Verkürzt ^(*) bei Ki67+	n.s.	n.d.	Verkürzt ^(*) bei Ki67+	n.s.
RAI 1993	N-	212	100	n.d.	Verkürzt ^(*) bei Ki67+	n.s.	n.d.	n.d.	n.d.
SES 1996	N-	411	74	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.s.	Verkürzt ^(*) bei Ki67+
RUD 1999	N-	356	99	n.d.	Verkürzt ^(*) bei Ki67+	Verkürzt ^(*) bei Ki67+	n.d.	Verkürzt ^(*) bei Ki67+	Verkürzt ^(*) bei Ki67+
HAE 1996	N-	307	60	n.d.	n.d.	Verkürzt ^(*) bei Ki67+	n.d.	n.d.	n.s.

N+=nodalpositiv, N-=nodalnegativ, n.d.=nicht durchgeführt, n.s.=nicht signifikant ($p > 0,05$), ^(*) = $p \leq 0,05$

Die Mehrzahl der Studien zum Einfluss von Ki-67 auf das Überleben zeigt bei Ki-67-Positivität ein verkürztes Überleben, sei es das Gesamt- oder krankheitsfreie Überleben. Als Proliferationsmarker korreliert ein positiver Ki-67-Nachweis in einigen Studien nachgewiesenermaßen mit dem hohen Grading der Tumoren, daher bestätigt sich die in der univariaten Analyse nachgewiesene Signifikanz in der multivariaten Analyse bei diesen Studien nicht [GAS 1991, HAE 1996].

Um Ki-67 als Prognosefaktor zu bestätigen und seine Wertigkeit für die Anwendung einer verschärften Therapie zu bestimmen, müssten weiterführende prospektive Studien mit einem größeren Patientinnenkollektiv durchgeführt werden. Dies gilt auch bei der Entscheidung für eine aggressivere lokale Therapie bei Ki-67-Nachweis. Es ist anzunehmen, dass die Wertigkeit von Ki-67 hinter aussagekräftigeren Prognosefaktoren, wie einem positiven Nodalstatus, zurücksteht.

4.4.5 VEGF

Was ist VEGF?

Die Angiogenese als Prozess, der zu der Entstehung neuer Blutgefäße führt, ist bei vielen Tumorarten notwendig für Tumorwachstum, Tumorinvasion und Metastasierung. Daten aus experimentellen und klinischen Studien zeigen, dass auch das Mammakarzinom, wie alle soliden Tumoren, ein angiogenese-abhängiger Tumor ist. Die meist retrospektiven Studien konnten zeigen (75 % bei insgesamt 43 veröffentlichten Studien), dass die intratumorale Dichte an Mikrogefäßen ein unabhängiger und signifikanter prognostischer Faktor sowohl bei nodal-positiven als auch bei nodal-negativen Patientinnen ist. Unter verschiedenen Angiogenese-Faktoren konnte VEGF (Vascular endothelial growth factor) als aussagekräftiger Marker dieses Gefäßwachstums entdeckt werden.

VEGF und das Überleben beim Mammakarzinom

Acht von neun publizierten retrospektiven Studien zeigen, dass eine VEGF-Expression signifikant mit einem verkürzten krankheitsfreien Überleben, Gesamtüberleben oder beidem assoziiert ist (siehe Tabelle 20), eine neuere Studie von DePaola et al. konnte jedoch keinen Zusammenhang finden.

Mit dem Nachweis einer vermehrten Expression von VEGF versucht man nun, Untergruppen von Patientinnen zu identifizieren, die eine schlechtere Prognose bezüglich des krankheitsfreien und Gesamtüberlebens haben und nur eingeschränkt

von den konventionellen Therapien profitieren. Dieser Nachweis ist besonders interessant, da für diese Patientinnen die Aussicht besteht, von einer Anti-VEGF-Therapie profitieren zu können.

Eine Korrelation von VEGF mit anderen gesicherten Prognosefaktoren des Mammakarzinoms (T-Stadium, Tumorgröße und Anzahl befallender Lymphknoten) konnte nicht nachgewiesen werden. In mehreren Studien [LIN 2000, TOI 1997] zeigte sich ein Zusammenhang zwischen einem erhöhten VEGF-Status und der p53-Mutation. Die Kombination beider Faktoren hatte wiederum eine höhere prognostische Aussagekraft als jeder Faktor für sich alleine genommen.

VEGF und seine prognostische Wertigkeit bezüglich der Lokalrezidivrate

Die Frage, ob VEGF auch eine Rolle bei der Lokalrezidivrate von Mammakarzinomen spielt, ist in den meisten veröffentlichten Studien nicht gestellt worden, lediglich eine Studie von De Paola et al. untersuchte die Auswirkung von VEGF-Expression auf die Lokalrezidivrate [DPA 2002]. In unserer Studie konnte, wie in vielen vorhergehenden, für VEGF-negative Patientinnen ein verlängertes fernmetastasenfreies sowie krankheitsspezifisches Überleben nachgewiesen werden, jedoch konnte VEGF-Expression nicht als prognostischer Faktor für die Lokalrezidivrate gezeigt werden. Ein Unterschied von mehr als 9,5 % zwischen VEGF-positiven und VEGF-negativen Tumoren kann in der vorliegenden Untersuchung mit 95 % Wahrscheinlichkeit bezüglich der lokalen Tumorkontrolle ausgeschlossen werden.

In Tabelle 20 sind die größeren Studien zum prognostischen Wert von VEGF beim Mammakarzinom zusammengestellt.

Tabelle 20: Prognostische Bedeutung der VEGF-Bestimmung beim invasiven Mammakarzinom

Studie	n	Nodal-status	Methode	Follow-up in Monaten	Univariate Analyse			Multivariate Analyse		
					Lokal-rezidive	Krankheitsfreies Überleben	Gesamt-Überleben	Lokal-rezidive	Krankheitsfreies Überleben	Gesamt-Überleben
DURST Diss.	105	N-/N+	ICA	60	n.s.	Verkürzt ^(*) bei VEGF+	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
TOI 1994	103	N-/N+	ICA	51	n.d.	Verkürzt ^(*) bei VEGF+	n.d.	n.d.	Verkürzt ^(*) bei VEGF+	n.d.
TOI 1995	328	N-/N+	ICA	56	n.d.	Verkürzt ^(*) bei VEGF+	n.d.	n.d.	n.s.	n.d.
EPP1998	305	N-/N+	ICMA	37	n.d.	Verkürzt ^(*) bei VEGF+	n.d.	n.d.	Verkürzt ^(*) bei VEGF+	n.d.
	190	N-	ICMA	76	n.d.	Verkürzt ^(*) bei VEGF+	n.d.	n.d.	Verkürzt ^(*) bei VEGF+	n.d.
GAS 1997	260	N-	IMA	66	n.d.	Verkürzt ^(*) bei VEGF+	Verkürzt ^(*) bei VEGF+	n.d.	Verkürzt ^(*) bei VEGF+	Verkürzt ^(*) bei VEGF+
GAS 1999	301	N+	IMA	72	n.d.	Verkürzt ^(*) bei VEGF+	Verkürzt ^(*) bei VEGF+	n.d.	Verkürzt ^(*) bei VEGF+	Verkürzt ^(*) bei VEGF+
DPA 2002	242	N-	ICA	68	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
LIN 2000	833	N-/N+	ELISA	56	n.d.	n.d.	Verkürzt ^(*) bei VEGF+	n.d.	n.d.	Verkürzt ^(*) bei VEGF+
LIN 1998	525	N-	ELISA	46	n.d.	n.d.	Verkürzt ^(*) bei VEGF+	n.d.	n.d.	Verkürzt ^(*) bei VEGF+

N+=nodalpositiv, N-=nodalnegativ, IMA=immunometric assay; ICA=immunohistochemical assay; Rnase= Rnase protection analysis, ICMA=chemiluminescence immunosorbent assay, n.s.=nicht signifikant ($p > 0,05$), n.d.=nicht durchgeführt, ^(*)= $p \leq 0,05$

Falls diese Informationen in großen klinischen, prospektiven Studien validiert werden könnten, wird die VEGF-Bestimmung klinische Relevanz erlangen, zum einen durch die Vermeidung unnötiger Therapien bei Patientinnen mit niedrigen VEGF-Raten im Tumor, zum anderen durch die Option der Anti-VEGF-Therapie, mit der man die Angiogenese im Tumor hemmen kann. Bisher gibt es allerdings keine Hinweise dafür, dass die VEGF-Expression ein relevanter Faktor für die lokale Therapie werden könnte.

4.5 Schlussfolgerung

Es konnten Patientinnengruppen identifiziert werden, die ein stark erhöhtes Lokalrezidivrisiko trotz radikaler Mastektomie und anschließender Strahlentherapie aufwiesen. Von Bedeutung sind dabei vor allem die Lokalrezidive, die Erstmanifestation eines Rezidivs sind (LC1st), da hier das Lokalrezidiv einen entscheidenden negativen Faktor für das Überleben der Patientinnen darstellt.

Negative Prognosefaktoren für LC1st waren Tumorgöße $\geq 5\text{cm}$, Multizentrität und „knappe“ oder „positive“ Resektionsränder. Auch Patientinnen mit einer Kombination aus negativem Hormonrezeptorstatus und einer schlechten histopathologischen Differenzierung (G2b/G3) gehörten zu dieser Risikogruppe. Die Validität der Aussagen ist aufgrund der niedrigen Zahl an Ereignissen ($n = 6$) eingeschränkt, die Ergebnisse werden jedoch bei der Analyse der größeren Anzahl aller Lokalrezidive ($n = 17$) und auch von anderen Autoren so bestätigt.

Nach den Ergebnissen unserer Auswertung und den Resultaten anderer Studien sollten für diese Patientinnen sowie für Patientinnen, die durch Hormonrezeptornegativität und Tumorklassifikation T3/T4 ein stark erhöhtes Lokalrezidivrisiko oder mehr als 3 befallene Lymphknoten haben, zusätzliche Therapiemöglichkeiten überprüft werden, um eine bessere lokale Kontrolle zu gewährleisten. Hierfür käme eine Intensivierung der post-operativen Bestrahlung, zum Beispiel eine höhere Gesamtdosis mit kürzerer Gesamtbehandlungszeit, in Frage.

Von den untersuchten neuen Faktoren konnte sich keiner als eindeutiger Prognosefaktor bezüglich des Auftretens von Lokalrezidiven beim Mammakarzinom etablieren. p53-Negativität und Ki-67-Positivität konnten in Kombination mit einem negativen Hormonrezeptorstatus als Faktoren für eine schlechte lokale Tumorkontrolle erkannt werden.

In der Praxis müssen nach wie vor die schon bekannten Faktoren, wie Tumorstadium und Nodalstatus, zur Therapieentscheidung herangezogen werden. Patientinnen, die ein erhöhtes Risiko für ein Lokalrezidiv trotz aggressiver lokaler Therapie, bestehend aus radikaler Mastektomie und postoperativer Radiatio, haben, sollten in Studien mit Intensivierung der lokalen Therapie untersucht werden.

5 Zusammenfassung

Die Therapie des lokal fortgeschrittenen Mammakarzinoms zielt sowohl auf eine maximale lokale als auch systemische Tumorkontrolle ab. In Abhängigkeit von bekannten prognostischen Faktoren, insbesondere dem TNM-Stadium der Erkrankung und dem Hormonrezeptor-Status des Primärtumors, soll für jede einzelne Patientin die effektivste, aber auch nebenwirkungsärmste Therapie im interdisziplinären Konsens gefunden werden.

Dabei hat die standardisierte Strahlentherapie der Brustwand nach modifiziert radikaler Mastektomie als wenig invasives Verfahren mit relativ geringer Toxizität hinsichtlich der Verbesserung der lokalen Tumorkontrolle und des Langzeitüberlebens der Patientinnen an Bedeutung gewonnen. Die prognostischen Faktoren, die zur Indikationsstellung einer strahlentherapeutischen Behandlung der Brustwand und des regionalen Lymphabflusses nach modifiziert radikaler Mastektomie und Lymphadenektomie führen, sind bis heute nur zum Teil gesichert. Zumindest konnte gezeigt werden, dass für Patientinnen mit Risikofaktoren, wie z. B. T3-/T4-Tumoren oder positiver Nodalstatus, das Lokalrezidivrisiko durch die postoperative Bestrahlung um den Faktor 3 gesenkt wurde und in einem absoluten 10-Jahres-Überlebensvorteil von ca. 10 % resultierte. Für uns stellte sich die Frage, ob durch die differenzierte Beurteilung bekannter und neuerer Prognosefaktoren für das Auftreten von Lokalrezidiven Subgruppen von Patientinnen identifiziert werden können, die möglicherweise von einer optimierten Postmastektomie-Bestrahlung profitieren.

In dieser retrospektiven Analyse wurden 119 Patientinnen mit lokoregionär fortgeschrittenem Brustkrebs, die nach modifiziert radikaler Mastektomie eine Elektronen-Rotationsbestrahlung der Thoraxwand in der Radioonkologie Tübingen erhalten hatten, auf Risikofaktoren für die Entwicklung eines Lokalrezidivs hin bewertet. Dabei wurden nicht nur verschiedene etablierte Prognosefaktoren des Mammakarzinoms, sondern auch neue Faktoren, c-erb-B2, p53, Ki-67, Bcl-2 und VEGF, untersucht.

Es zeigte sich, dass für Patientinnen mit bestimmten Risikokonstellationen trotz standardisierter lokoregionaler Therapie (Mastektomie und Bestrahlung) ein hohes Lokalrezidivrisiko von ~ 30 % besteht. In unserer Analyse waren folgende Risikofaktoren mit diesem erhöhten Lokalrezidivrisiko (LC1st) assoziiert: Primärtumorgröße ≥ 5 cm, Multizentrität, „knapper“ oder „positiver“ Resektionsrand sowie das Vorhandensein mehrerer relativer Risikofaktoren, wie z.B. negativer Hormonrezeptorstatus plus Entdifferenzierung (G2b/G3) des Primärtumors. Von den neueren, bisher für die lokale Tumorkontrolle nicht gesicherten Risikofaktoren war lediglich die p53-Überexpression mit einer günstigen langfristigen Tumorkontrolle assoziiert. Zudem war das gleichzeitige Vorhandensein mehrerer prognostisch ungünstiger Faktoren (negativer Hormonrezeptorstatus plus p53- oder Ki67-Negativität) mit einer verminderten Tumorkontrolle (LC1st und absolute Rate) verbunden, wobei bei kleiner Fallzahl die Aussagekraft bezüglich LC1st eingeschränkt ist. Patientinnen, die trotz standardisierter Operations- und Strahlentherapietechnik dieses erhebliche Lokalrezidivrisiko von bis zu 30 % haben, können möglicherweise von einer optimierten lokalen Therapie profitieren. Dabei gewinnen Methoden wie eine Dosisescalation der post-operativen Bestrahlung immer mehr an Bedeutung.

Von den neuen untersuchten Faktoren ergaben sich weder in unserer Auswertung noch in anderen Studien Hinweise, dass die Entscheidung über die lokale Therapie von einem oder mehreren dieser Faktoren abhängig gemacht werden sollte. Diesbezüglich sind weitere Studien erforderlich.

IV Literaturverzeichnis

- [ADA 1998] *Adams, J.M., Cory, S.*: The bcl-2 protein family: Arbiters of cell survival. In: *Science* 281 (1998), S. 1322-1326.
- [AHL1988a] *Ahlborn, T.N., Gump, F.E., Bodian, C., Habif, D.V., Kister, S.*: Tumor to fascia margin as a factor on local recurrence after modified radical mastectomy. In: *Surg Gynecol Obstet* 166 (1988), S. 523-526.
- [ALI 1988] *Ali, I.U., Campbell, G., Lidereau, R., Callahan, R.*: Lack of evidence for prognostic significance of c-erbB-2 amplification. In: *Oncogene Res* 3 (1988), S. 139-146.
- [ALL 1993] *Allred, D.C., Clark, G.M., Elledge, R., Fuqua, S.A., Brown, R.W., Chamness, G.C., Osborne, C.K., McGuire, W.L.*: Association of p53 protein expression with tumor cell proliferation rate and clinical outcome in node-negative breast cancer. In: *J Natl Cancer Inst* 85 (1993), S. 200-206.
- [ALL 1992] *Allred, D.C., Clark, G.M., Tandon, A.K., Molina, R., Tormey, D.C., Osborne, C.K., Gilchrist, K.W., Mansour, E.G., Abeloff, M., Eudey, L.*: HER-2/neu in node-negative breast cancer: prognostic significance of overexpression influenced by the presence of in situ carcinoma. In: *J Clin Oncol* 10 (1992), S. 599-605.
- [ARR 1995] *Arriagada, R., Rutqvist, L.E., Mattsson, A., Kramar, A., Rotstein, S.*: Adequate locoregional treatment for early breast cancer may prevent secondary dissemination. In: *J Clin Oncol* 13 (1995), S. 2869-2878.
- [ARR 1996] *Arriagada, R., Le, M.G., Rochard, F., Contesso, G.*: Conservative treatment versus mastectomy in early breast cancer. Patterns of failure with 15 years of follow-up data. In: Institut Gustave-Roussy Breast Cancer Group. *J Clin Oncol* 14 (1996), S. 1558-1564.
- [AUQ 1992] *Auquier, A., Rutqvist, L.E., Host, H., Rotstein, S., Arriagada, R.*: Post-mastectomy megavoltage radiotherapy: the Oslo and Stockholm trials. In: *Eur J Cancer* 28 (1992), S. 433-437.

- [BAR 1993] *Barnes, D.M., Dublin, E.A., Fisher, C.J.*: Immunohistochemical detection of p53 protein in mammary carcinoma. In: *Hum Pathol* 24 (1993), S. 459-476.
- [BEC 1995] *Beck, T., Weller, E.E., Weikel, W., Brumm, C., Wilkens, C., Knapstein, P.G.*: Usefulness of immunohistochemical staining for p53 in the prognosis of breast carcinomas: Correlation with established prognosis parameters and with the proliferation marker MIB-1. In: *Gynecol Oncol* 57 (1995), S. 96-104.
- [BEL 2002] *Belka, C., Budach, W.*: Anti-apoptotic Bcl-2 proteins: structure, function and relevance for radiation biology. In: *Int J Radiat Biol* 78(8) (2002), S. 643-58.
- [BEL 2005a] *Bellon, J.R., Come, S.E., Gelman, R.S., Craig Henderson, I., Shulman, L.N., Silver, B.J., Harris, J.R., Recht, A.*: Sequencing of Chemotherapy and Radiation Therapy in Early-Stage Breast Cancer: Updated Results of a Prospective Randomized Trial. In: *Journal of Clinical Oncology* 23, No 9 (March 20) (2005), S. 1934-1940.
- [BEL 2005b] *Bellon, J.R., Harris, J.R.*: Chemotherapy and Radiation Therapy for Breast Cancer: What Is the Optimal Sequence? In: *Journal of Clinical Oncology* 23, No 1 (January 1) (2005), S. 5-7.
- [BER 1992] *Berns, E.M., Klijn, J.G., van Putten, W.L., van Staveren, I.L., Portengen, H., Foekens, J.A.*: c-myc amplification is a better prognostic factor than Her2/neu amplification in primary breast cancer. In: *Cancer Res* 52 (1992), S. 1107-1113.
- [BIA 1993] *Bianchi, S., Paglierani, M., Zampi, G., Cardona, G., Cataliotti, L., Bonardi, R., Zappa, M., Ciatto, S.*: Prognostic significance of c-erbB-2 expression in node negative breast cancer. In: *Br J Cancer* 67 (1993), S. 625-629.
- [BLI 1992] *Blichert-Toft, M., Rose, C., Andersen, J.A., Overgaard, M., Axelsson, C.K., Andersen, K.W., Mouridsen, H.T.*: Danish randomized trial comparing breast conservation therapy with mastectomy: six years of life-

- table analysis. Danish Breast Cancer Cooperative Group. In: J Natl Cancer Inst Monogr 11 (1992), S. 19–25.
- [BOR 1990] *Borg, A., Tandon, A.K., Sigurdsson, H., Clark, G.M., Ferno, M., Fuqua, S.A., Killander, D., McGuire, W.L.*: HER-2/neu amplification predicts poor survival in node-positive breast cancer. In: *Cancer Res* 50 (1990), S. 4332-4337.
- [BOR 1995] *Borg, A., Lennerstrand, J., Stenmark-Askmal M., Ferno, M., Brisfors, A., Ohrvik, A., Stal, O., Killander, D., Lane, D., Brundell, J.*: Prognostic significance of p53 overexpression in primary breast cancer; a novel luminometric immunoassay applicable on steroid receptor cytosols. In: *Br J Cancer* 71 (1995), S. 1013-1017.
- [BRÖ 1996] *Bröder, R., Eckart, W.U.*: Die Behandlung des Brustkrebses – Aspekte der Therapieggeschichte von der Antike bis ins 20. Jahrhundert. In: *Kaufmann, M., Maass, H., Alt, D., Schmidt, C.-R.*: Ein Jahrhundert endokrine Therapie des Mammakarzinoms (1996), S. 88-89, Springer, Berlin, Heidelberg.
- [BRO 1996] *Brown, R.W., Allred, D.C., Clark, G.M., Osborn, C.K., Hilsenbeck, S.G.*: Prognostic value of Ki67 compared to S phase fraction in axillary node-negative breast cancer. In: *Clin Cancer Res* 2 (1996), S. 585-592.
- [BUD 1998] *Budach, W., Sauer, R.*: Postoperative Strahlentherapie bei Hochrisikopatientinnen mit Mammakarzinom und adjuvanter Chemotherapie. In: *Strahlenther Onkol* 174 (1998), S. 106–107.
- [BUD 2001] *Budach, W., Belka, C., Rudner, J., Marini, P., Bamberg, M.*: Bcl-2: Apoptoseregulation – Teil II – Klinische Beobachtungen. In: *Experimentelle Strahlentherapie und Klinische Strahlenbiologie* 10 (2001), S. 8-13.
- [CAL 1994] *Caleffi, M., Teague, M.W., Jensen, R.A.*: p53 gene mutation and steroid receptor status in breast cancer. In: *Cancer* 73 (1994), S. 2147-2156.
- [CHR 1996] *Christ, G.*: Erfahrungsbericht zur Elektronenbewegungsbestrahlung am Philips Linearbeschleuniger SL20 bzw. SL25. Abteilung für Medizinische Physik, Radiologische Universitätsklinik Tübingen (1996).

- [CLA 1991] *Clark, G.M., McGuire, W.L.*: Follow-up study of HER-2/neu amplification in primary breast cancer. In: *Cancer Res* 51 (1991), S. 944-948.
- [COW 1998] *Cowen, D., Jacquemier, J., Houvenaeghel, G., Viens, P., Puig, B., Bardou, V.J., Resbeut, M., Maraninchi, D.*: Local and distant recurrence after conservative management of a very low risk breast cancer are dependent events: a 10-year follow-up. In: *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 41 (1998), S. 801–807.
- [CUZ 1987] *Cuzick, J., Stewart, H., Peto, R., Baum, M., Fisher, B., Host, H., Lythgoe, J.P., Ribeiro, G., Scheurlen, H., Wallgren, A.*: Overview of randomized trials of postoperative adjuvant radiotherapy in breast cancer. In: *Cancer Treat Rep* 71 (1987), S. 15-25.
- [DAH 2000] *Dahm-Daphi, J.*: p53: biology and role for cellular radiosensitivity. In: *Strahlenther Onkol* 176(6) (2000), S. 278-85.
- [DAV 1985] *Davis, B.W., Gelber, R., Goldhirsch, A., Hartmann, W.H., Hollaway, L., Russell, I., Rudenstam, C.M.*: Prognostic significance of peritumoral lymphatic invasion in clinical trials of adjuvant therapy for breast cancer with axillary lymph node metastasis. In: *Hum Pathol* 16 (1985), S. 1212-1218.
- [DPA 2002] *De Paola, F., Granato, A.M., Scarpì, E., Monti, F., Medri, L., Bianchi, S., Amadori, D., Volpi, A.*: Vascular endothelial growth factor and prognosis in patients with node-negative breast cancer. In: *Int J Cancer* 98(2) (2002), S. 228-33.
- [DIA 1998] *Diab, S.G., Hilsenbeck, S.G., de Moor, C., Clark, G.M., Osborne, C.K., Ravdin, P.M., Elledge, R.M.*: Radiation therapy and survival in breast cancer patients with 10 or more positive axillary lymph nodes treated with mastectomy. In: *J Clin Oncol* 16 (1998), S. 1655–1660.
- [DOM 1994] *Domagala, W., Striker, G., Szadowska, A., Dukowicz, A., Harezga, B., Osborn, M.*: p53 protein and vimentin in invasive ductal NOS breast

- carcinoma - relationship with survival and sites of metastases. In: *Eur J Cancer* 30A (1994), S. 1527-1534.
- [DON 1993] *Donegan, W.L., Stine, S.B., Samter, T.G.*: Implications of extracapsular nodal metastases for treatment and prognosis of breast cancer. In: *Cancer* 72 (1993), S. 778-782.
- [DON 1996] *Donegan, W.L., Perz-Mesa, C.M., Watson, F.*: Biostatistical study of locally recurrent breast carcinoma. In: *Surg Gynecol Obstet* 122 (1996), S. 529-540.
- [DUB 1998] *Dubey, A.K., Recht, A., Come, S., Shulman, L., Harris, J.*: Why and how to combine chemotherapy and radiation therapy in breast cancer patients. In: *Recent Results Cancer Res* 152 (1998), S. 247–254.
- [EBC 1995] *Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group*: Effects of radiotherapy and surgery in early breast cancer: an overview of the randomized trials. In: *N Engl J Med* 333 (1995), S. 1444–1455.
- [EBC 1998a] *Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group*: Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomized trials. In: *Lancet* 351 (1998a), S. 1451–1467.
- [EBC 1998b] *Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group*: Polychemotherapy for early breast cancer: an overview of the randomized trials. In: *Lancet* 352 (1998b), S. 930–942.
- [EBC 2000] *Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group*: Favourable and unfavourable effects on long-term survival of radiotherapy for early breast cancer: an overview of the randomized trials. In: *Lancet* 355 (2000), S. 1757–1770.
- [EKH 1992] *El Khatib, E., Antolak, J., Scrimger, J.*: Radiation dose distribution for electron arc therapy using electrons of 6-20 MeV. In: *Med Phys Biol* 37 (1992), S. 1375-1384.
- [ELK 2000] *Elkhuizen, P.H., van Slooten, H.J., Clahsen, P.C., Hermans, J., van de Velde, C.J., van den Broek, L.C., van de Vijver, M.J.*: High local recurrence risk after breast-conserving therapy in node-negative

premenopausal breast cancer patients is greatly reduced by one course of perioperative chemotherapy: A European Organization for Research and Treatment of Cancer, Breast Cancer Cooperative Group Study. In: *J Clin Oncol* 18(5) (2000), S. 1075-83.

[ELL 1993a] *Ellegde, R.M., Fuqua, S.A.W., Clark, G.M., Pujol, P., Allred, D.C., McGuire, W.L.*: Prognostic significance of p53 gene alterations in node-negative breast cancer. In: *Breast Cancer Res Treat* 26 (1993), S. 225-235.

[ELL 1993b] *Elledge, R.M., Fuqua, S.A.W., Clark, G.M., Pujol, P., Allred, D.C.*: William L. McGuire Memorial Symposium. The role and prognostic significance of p53 gene alterations in breast cancer. In: *Breast Cancer Res Treat*, 27 (1993b), S. 95-102.

[ELL 1994] *Elledge, R.M., Clark, G.M., Fuqua, S.A.W., Yu, Y.Y., Allred, D.C.*: p53 protein accumulation detected by five different antibodies: Relationship to prognosis and heat shock protein 70 in breast cancer. In: *Cancer Res* 54 (1994), S. 3752-375.

[ELL 1997] *Elledge, R.M., Green, S., Howes, L., Clark, G.M., Berardo, M., Allred, D.C., Pugh, R., Ciocca, D., Ravdin, P., O'Sullivan, J., Rivkin, S., Martino, S., Osborne, C.K.*: bcl-2, p53, and response to tamoxifen in estrogen receptor-positive metastatic breast cancer: a Southwest Oncology Group study. In: *J Clin Onc* 15 (1997), S. 1916-1922.

[ELL 1996] *Ellerbroek, N.A.*: Sequencing of chemotherapy and radiation therapy in the treatment of early breast cancer – the devil is in the details. In: *Radiology* 200 (1996), S. 605–607.

[ELT 1998] *El-Tamer, M., Homel, P., Braverman, A.S.*: Radiotherapy and chemotherapy in high-risk breast cancer. In: *N Engl J Med*, 338 (1998), S. 329.

[EPP 1998] *Eppenberger, U., Kueng, W., Schlaeppli, J.M., Roesel, J.L., Benz, C., Mueller, H., Matter, A., Zuber, M., Luescher, K., Litschgi, M., Schmitt, M., Foekens, J.A., Eppenberger-Castori, S.*: Markers of tumor angiogenesis and

- proteolysis independently define high- and low-risk subsets of node-negative breast cancer patients. In: *J Clin Oncol* 16(9) (1998), S. 3129-36.
- [EVA 1998] *Evans, R.A.*: Radiotherapy and chemotherapy in high-risk breast cancer. In: *N Engl J Med* 338 (1998), S. 331.
- [FIS 1966] *Fisher, B., Fisher, E.R.*: Transmigration of lymph nodes by tumor cells. In: *Science* 152 (1966), 1397-1398.
- [FIS 1989a] *Fisher, B.*: Entwicklung, Technik und Ergebnisse der brusterhaltenden Therapie. In: *Bohmert H.: Brustkrebs, Organerhaltung und Rekonstruktion*. S. 42-46 (1989), Thieme, Stuttgart, New York.
- [FIS 1995] *Fisher, B., Anderson, S., Redmond, C., Wolmark, N., Wickerham, D.L., Cronin, W.M.*: Reanalysis and results after 12 years of follow-up in a randomized clinical trial comparing total mastectomy with lumpectomy with or without irradiation in the treatment of breast cancer. In: *N Engl J Med*, 333 (1995), S. 1456–1461.
- [FIT 2000] *Fitzgibbons, P.L., Page, D.L., Weaver, D., Thor, A.D., Allred, D.C., Clark, G.M., Ruby, S.G., O'Malley, F., Simpson, J.F., Connolly, J.L., Hayes, D.F., Edge, S.B., Lichter, A., Schnitt, S.J.*: Prognostic factors in breast cancer. College of the American Pathologists Consensus Statement. In: *Arch Pathol Lab Med* 124 (2000), S. 966-978.
- [GAG 1993] *Gaglia, P., Bernardi, A., Venesio, T., Caldarola, B., Lauro, D., Cappa, A.P., Calderoni, P., Liscia, D.S.*: Cell proliferation of breast cancer evaluated by anti-BrdU and anti-Ki-67 antibodies: its prognostic value on shortterm recurrences. In: *Eur J Cancer* 29A (1993), S. 1509-1513.
- [GAS 1992] *Gasparini, G., Pozza, F., Meli, S., Reitano, M., Santini, G., Bevilacqua, P.*: Breast cancer cell kinetics: immunocytochemical determination of growth fractions by monoclonal antibody Ki-67 and correlation with flow cytometric S-phase. In: *Anticancer Res* 11 (1992), S. 2015-2021.
- [GAS 1994] *Gasparini, G., Weidner, N., Bevilacqua, P., Maluta, S., Dalla Palma, P., Caffo, O., Barbareschi, M., Boracchi, P., Marubini, E., Pozza, F.*:

- Tumor microvessel density, p53 expression, tumor size, and peritumoral lymphatic vessel invasion are relevant prognostic markers in node-negative breast cancer. In: *J Clin Oncol* 12 (1994), S. 454-466.
- [GAS 1997] *Gasparini, G., Toi, M., Gion, M., Verderio, P., Dittadi, R., Hanatani, M., Matsubara, I., Vinante, O., Bonoldi, E., Boracchi, P., Gatti, C., Suzuki, H., Tominaga, T.*: Prognostic significance of vascular endothelial growth factor protein in node-negative breast carcinoma. In: *J Natl Cancer Inst* 89(2) (1997), S. 139-47.
- [GAS 1999] *Gasparini, G., Toi, M., Miceli, R., Vermeulen, P.B., Dittadi, R., Biganzoli, E., Morabito, A., Fanelli, M., Gatti, C., Suzuki, H., Tominaga, T., Dirix, L.Y., Gion, M.*: Clinical relevance of vascular endothelial growth factor and thymidine phosphorylase in patients with node-positive breast cancer treated with either adjuvant chemotherapy or hormone therapy. In: *Cancer J Sci Am* 5(2) (1999), S. 101-11.
- [GOL 1998] *Goldhirsch, A., Coates, A.S., Colleoni, M., Gelber, R.D.*: Radiotherapy and chemotherapy in high-risk breast cancer. In: *N Engl J Med* 338 (1998), S. 330.
- [GRA 1997] *Graeff, H., Wilmanns, W., Jänicke, F., Sauer, H., Classen, S.*: Prognostische und therapierelevante Faktoren beim Mammakarzinom. Ergebnisse einer Konsensuskonferenz. In: *Onkologe* 3 (1997), S. 409-412.
- [GUS 1992] *Gusterson, B.A., Gelber, R.D., Goldhirsch, A., Price, K.N., Save-Soderborgh, J., Anbazhagan, R., Styles, J., Rudenstam, C.M., Golouh, R., Reed, R.*: Prognostic importance of c-erbB-2 expression in breast cancer. International (Ludwig) Breast Cancer Study Group. In: *J Clin Oncol* 10 (1992), S. 1049-1056.
- [HAE 1995] *Haerslev, T., Jacobsen, G.K.*: An immunohistochemical study of p53 with correlations to histopathological parameters, c-erbB-2, proliferating cell nuclear antigen, and prognosis. In: *Hum Pathol* 26(3) (1995), S. 295-301.

- [HAE 1996] *Haerslev, T., Jacobsen, G.K., Zedeler, K.*: Correlation of growth fraction by Ki-67 and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunohistochemistry with histopathological parameters and prognosis in primary breast carcinomas. In: *Breast Cancer Res Treat* 37(2) (1996), S. 101-113.
- [HAF 1996] *Haffty, B.G., Brown, F., Carter, D., Flynn, S.*: Evaluation of HER-2/neu oncoprotein expression as a prognostic indicator of local recurrence in conservatively treated breast cancer: A case-control study. In: *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 35 (1996), S. 751-757.
- [HAL 1894] *Halsted, W.S.*: The results of operations for the cure of cancer of the breast performed at the Johns Hopkins Hospital from June, 1889 to January, 1894. In: *Ann Surg* 20 (1894), S. 497.
- [HAR 1987] *Harris, J.R., Hellman, S.*: Primary treatment of breast cancer: adjuvant radiotherapy. In: *Harris, J.R., Hellman, S., Henderson, I.C.*: Breast disease (1987), S. 284-299, Lippincott, Philadelphia.
- [HEH 2002] *Hehr, T., Budach, W., Durst, I., Glocker, S., Classen, J., Weinmann M., Christ G., Bamberg M.*: Postmastectomy electron-beam-rotation irradiation in locally advanced breast cancer: prognostic factors of locoregional tumor control. In: *Strahlenther Onkol* 178(11) (2002), S. 624-632.
- [HEL 1995] *Hellemans, P., van Dam, P.A., Weyler, J., van Oosterom, A.T., Buytaert, P., Van Marck, E.*: Prognostic value of bcl-2 expression in invasive breast cancer. In: *Br J Cancer* 72 (1995), S. 354-360.
- [HEL 1997] *Hellman, S.*: Stopping metastases at their source. In: *N Engl J Med*, 337(14) (1997), S. 996-997.
- [HÖL 2001] *Hölzel, D., Engel, J., Schmidt, M., Sauer, H.*: A model for primary and secondary metastasis in breast cancer and the clinical consequences. In: *Strahlenther Onkol* 177 (2001), S. 10–24.
- [HOU 1994] *Houghton, J., Baum, M., Haybittle, J. L.*: Role of radiotherapy following total mastectomy in patients with early breast cancer: The Closed

- Trials Working Party of the CRB Breast Cancer Trials Group. In: *World J Surg* 18 (1994), S. 117-122.
- [HSU 1981] *Hsu, S.M., Raine, L., Fanger, H.*: Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. In: *J Histochem Cytochem* 29(4) (1981), S. 577-80.
- [HUA 1997] *Huang, D.C., O'Reilly, L.A., Strasser, A., Cory, S.*: The anti-apoptosis function of Bcl-2 can be genetically separated from its inhibitory effect on cell cycle entry. In: *EMBO J* 6(15) (1997), S. 4628-38.
- [ISO 1992] *Isola, J., Visakorpi, T., Holli, K., Kallioniemi, O.P.*: Association of overexpression of tumor suppressor protein p53 with rapid cell proliferation and poor prognosis in node-negative breast cancer patients. In: *J Natl Cancer Inst* 84 (1992), S. 1114-1119.
- [JAG 2000] *Jager, J.J., Jansen, R.L., Arends, J.W., Joosten-Achjanie, S., Volovics, L., Schouten, L.J., De Jong, J.M., Meyenfeldt, M.F., Blijham, G.H.*: Anti-apoptotic phenotype is associated with decreased locoregional recurrence rate in breast cancer. In: *Anticancer Res* 20(2B) (2000), S. 1269-1275.
- [JAI 1997] *Jain, R.K.*: Delivery of molecular and cellular medicine to solid tumors. In: *Microcirculation* 4 (1997), S. 1-23.
- [KAL 1991] *Kallioniemi, O.P., Holli, K., Visakorpi, T., Koivula, T., Helin, H.H., Isola, J.J.*: Association of c-erbB-2 protein over-expression with high rate of cell proliferation, increased risk of visceral metastasis and poor long-term survival in breast cancer. In: *Int J Cancer* 49 (1991), S. 650-655.
- [KUS 1998] *Kusenda, J.*: Bcl-2 family proteins and leukaemia. Minireview. In: *Neoplasma* 45 (1998), S. 117-122.
- [KYM 2001] *Kymionis, G.D., Dimitrakakis, C.E., Konstadoulakis, M.M., Arzimanoglou, I., Leandros, E., Chalkiadakis, G., Keramopoulos, A., Michalas, S.*: Can expression of apoptosis genes, bcl-2 and bax, predict

- survival and responsiveness to chemotherapy in node-negative breast cancer patients? In: *J Surg Res* 99(2) (2001), S. 161-168.
- [LE 1999] *Le, M.G., Mathieu, M.C., Douc-Rasy, S., Le Bihan, M.L., Adb El All, H., Spielmann, M., Riou, G.*: c-myc, p53 and bcl-2, apoptosis-related genes in infiltrating breast carcinomas: evidence of a link between bcl-2 protein over-expression and a lower risk of metastasis and death in operable patients. In: *Int J Cancer* 84(6) (1999), S. 562-567.
- [LEB 2001] *Lebeau, A., Deimling, D., Kaltz, C., Sendelhofert, A., Iff, A., Luthardt, B., Untch, M., Lohrs, U.*: Her-2/neu analysis in archival tissue samples of human breast cancer: comparison of immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization. In: *J Clin Oncol* 19(2) (2001), S. 354-63.
- [LEE 1992] *Lee, E.T.*: *Statistical Methods for Survival Data Analysis*. New York (1992), Wiley.
- [LEE 1993] *Lee, J.M., Bernstein, A.*: p53 mutations increase resistance to ionizing radiation. In: *Proc Natl Acad Sci USA* 90(12) (1993), S. 5742–5746.
- [LEO 1995a] *Leonard, C.E., Wood, M.E., Zhen, B., Rankin, J., Waitz, D.A., Norton, L., Howell, K., Sedlacek, S.*: Does administration of chemotherapy before radiotherapy in breast cancer patients treated with conservative surgery negatively impact local control? In: *J Clin Oncol* 12 (1995), S. 2906–2915.
- [LEO 1995b] *Leonard, C.E., Corkill, M., Tompkin, J., Zhen, B., Waitz, D., Norton, L., Kinzie, J.*: Are axillary recurrence and overall survival affected by axillary extranodal tumor extension in breast cancer? Implications for radiation therapy. In: *J Clin Oncol* 13 (1995), S. 47-53.
- [LIN 1998] *Linderholm, B., Tavelin, B., Grankvist, K., Henriksson, R.*: Vascular endothelial growth factor is of high prognostic value in node-negative breast carcinoma. In: *J Clin Oncol* 16(9) (1998), S. 3121-3128.
- [LIN 2000] *Linderholm, B., Lindh, B., Tavelin, B., Grankvist, K., Henriksson, R.*: p53 and vascular-endothelial-growth-factor (VEGF) expression predicts

- outcome in 833 patients with primary breast carcinoma. In: *Int J Cancer* 89(1) (2000), S. 51-62.
- [LIP 1993] *Lipponen, P., Aaltomaa, H.J.I., Syrjanen, S., Syrjanen, K.*: p53 protein expression in breast cancer as related to histopathological characteristics and prognosis. In: *Int J Cancer* 55, S. 51-56.
- [LOV 1991] *Lovekin, C., Ellis, I.O., Locker, A., Robertson, J.F., Bell, J., Nicholson, R., Gullick, W.J., Elston, C.W., Blamey, R.W.*: c-erbB-2 oncoprotein expression in primary and advanced breast cancer. In: *Br J Cancer* 63 (1991), S. 439-443.
- [MAH 1990] *Mahon, S.M., Cella, D.F., Donovan, M.I.*: Psychosocial adjustment to recurrent cancer. In: *Oncol Nurs Forum* 17 (1990), S. 47-52.
- [MAG 1995] *MacGrogan, C., Bonichon, F., de Mascarel, I., Trojani, M., Durand, M., Avril, A., Coindre, J.M.*: Prognostic value of p53 in breast invasive ductal carcinoma: an immunohistochemical study of 942 cases. In: *Breast Cancer Res Treat* 36(1) (1995), S. 71-81.
- [MAR 1994] *Marks, J.R., Humphrey, P.A., Wu, K., Berry, D., Bandarenko, N., Kerns, B.J., Iglehart, J.D.*: Overexpression of p53 and HER-2/neu proteins as prognostic markers in early stage breast cancer. In: *Ann Surg* 219 (1994), S. 332-341.
- [MCC 1991] *McCann, A.H., Dervan, P.A., O'Regan, M., Codd, M.B., Gullick, W.J., Tobin, B.M., Carney, D.N.*: Prognostic significance of c-erbB-2 and estrogen receptor status in human breast cancer. In: *Cancer Res* 51(12) (1991), S. 3296-303.
- [MCI 1994] *McIlwrath, A.J., Vasey, P.A., Ross, G.M., Brown, R.*: Cell cycle arrests and radiosensitivity of human tumor cell lines: dependence on wild-type p53 for radiosensitivity. In: *Cancer Res* 54(14) (1994), S. 3718-3722.
- [MEN 1986] *Mentzer, S.J., Osteen, R.T., Wilson, R.E.*: Local recurrence and the deep resection margin in carcinoma of the breast. In: *Surg Gynecol Obstet* 163 (1986), S. 513-517.

- [MOL 1997] *Molino, A., Micciolo, R., Turazza, M., Sonetti, F., Piubello, Q., Sonetti, A., Nortilli, R., Pelosi, G., Cetto, G.L.*: Ki-67 immunostaining in 322 primary breast cancers: association with clinical and pathological variables and prognosis. In: *Int J Cancer* 74 (1997), S. 433-437.
- [MOR 1997] *Morris, A.D., Morris, R.D., Wilson, J.F., White, J., Steinberg, S., Okunieff, P., Arriagada, R., Le, M.G., Blichert-Toft, M., van Dongen, J.A.*: Breast-conserving therapy vs. mastectomy in early stage breast cancer: a meta-analysis of 10 year survival. In: *Cancer J Sci Am* 3 (1997), S. 6-12.
- [NIX 1998] *Nixon, A.J., Manola, J., Gelman, R., Bornstein, B., Abner, A., Hetelekidis, S., Recht, A., Harris, J.R.*: No long-term increase in cardiac related mortality after breast-conserving surgery and radiation therapy using modern techniques. In: *J Clin Oncol* 16 (1998), S. 1374–1379.
- [NOG 1992] *Noguchi, M., Koyasaki, N., Otha, N., Kitagawa, H., Earashi, M., Thomas, M., Miyazaki, I., Mizukami, Y.*: C-erbB-2 oncoprotein expression versus internal mammary lymph node metastases as additional prognostic factors in patients with axillary lymph node-positive breast cancer. In: *Cancer* 69 (1992), S. 2953-2960.
- [OHM 1999] *Ohmori, T., Asahi, S., Sato, C., Maki, F., Masumoto, A., Okada, K.*: Bcl-2 protein expression and gut neurohormonal polypeptide/amine production in colorectal carcinomas and tumor-neighboring mucosa, which closely correlate to the occurrence of tumor. In: *Histol. Histopathol* 14 (1999), S. 37-44.
- [ORO 1994] *O'Rourke, S., Galea, M.H., Morgan, D., Euhus, D., Pinder, S., Ellis, I.O., Elston, C.W., Blamey, R.W.*: Local recurrence after simple mastectomy. In: *Br J Surg* 81(3) (1994), S. 386-389.
- [OSB 1983] *Osborne, C.K., Boldt, D.H., Clark, G.M., Trent, J.M.*: Effects of tamoxifen on human breast cancer cell cycle kinetics: accumulation of cells in early G1 phase. In: *Cancer Res* 43 (1983), S. 3583–3585.
- [OVE 1997] *Overgaard, M., Hansen, P.S., Overgaard, J., Rose, C., Andersson, M., Bach, F., Kjaer, M., Gadeberg, C.C., Mouridsen, H.T., Jensen, M.B.,*

- Zedeler, K.*: Postoperative radiotherapy in high-risk premenopausal women with breast cancer who receive adjuvant chemotherapy. Danish Breast Cancer Cooperative Group 82b Trial. In: *N Engl J Med* 337 (1997), S. 949-955.
- [OVE 1999] *Overgaard, M., Jensen, M.B., Overgaard, J., Hansen, P.S., Rose, C., Andersson, M., Kamby, C., Kjaer, M., Gadeberg, C.C., Rasmussen, B.B., Blichert-Toft, M., Mouridsen, H.T.*: Postoperative radiotherapy in high-risk postmenopausal breast-cancer patients given adjuvant tamoxifen: Danish Breast Cancer Cooperative Group DBCG 82c randomized trial. In: *Lancet* 353 (1999), 1641-1648.
- [PAT 1991] *Paterson, M.C., Dietrich, K.D., Danyluk, J., Paterson, A.H., Lees, A.W., Jamil, N., Hanson, J., Jenkins, H., Krause, B.E., McBlain, W.A.*: Correlation between c-erbB-2 amplification and risk of recurrent disease in node-negative breast cancer. In: *Cancer Res* 51 (1991), S. 556-557.
- [PAT 1948] *Patey, D.H., Dyson, W. H.*: The prognosis of carcinoma of the breast in relation to the type of operations performed. In: *Br J Cancer* 2 (1948), S. 7.
- [PER 1993] *Perera, F., Fisher, B.J., Cooke, A.*: Locoregional recurrence and extranodal extension in patients receiving systemic therapy for axillary node positive breast cancer. In: *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 27 (1993), S. 265.
- [PEY 1995] *Peyrat, J.P., Bonneterre, J., Lubin, R., Vanlemmens, L., Fournier, J., Soussi, T.*: Prognostic significance of circulating P53 antibodies in patients undergoing surgery for locoregional breast cancer. In: *Lancet* 345(8950) (1995), S. 21-22.
- [PFÄ 1990] *Pfäfflin, A.*: Ein Vergleich gemessener und berechneter Dosisverteilungen bei Elektronenbewegungsbestrahlung. In: *Diplomarbeit, Abteilung für medizinische Physik* (1990). Universität Tübingen.
- [PIE 1993] *Pierce, L.J., Oberman, H.A., Strawderman, M.H.*: Is an axillary boost necessary in node positive stage II disease in the presence of

- microscopic extracapsular extension? In: *Breast Cancer Res Treat* 27 (1993), S. 152.
- [PIE 1994] *Pierce, L.J., Merino, M.J., D'Angelo, T., Barker, E.A., Gilbert, L., Cowan, K.H., Steinberg, S.M., Glatstein, E.*: Is c-erb B-2 a predictor for recurrent disease in early stage breast cancer? In: *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 28(2), S. 395-403.
- [PIN 1994] *Pinder, S., Ellis, I.O., O'Rourke, S., Blamey, R.W., Elston, C.W.*: Pathological prognostic factors in breast cancer. III. Vascular invasion: relationship with recurrence and survival in a large series with long-term follow-up. In: *Histopathology* 24 (1994), S. 41-47.
- [PRE 1993] *Press, M.F., Pike, M.C., Chazin, V.R., Hung, G., Udove, J.A., Markowicz, M., Danyluk, J., Godolphin, W., Sliwkowski, M., Akita, R.*: Her-2/neu expression in node-negative breast cancer: direct tissue quantitation by computerized image analysis and association of overexpression with increased risk of recurrent disease. In: *Cancer Res* 53 (1993), 4960-4970.
- [RAA 2001] *Raab, G., Eiermann, W.*: Trastuzumab, ein neuer Behandlungsansatz beim Mammakarzinom. In: *Internist* 42 (2001), S. 835-842.
- [RAF 1998] *Raffle, A.E.*: Radiotherapy and chemotherapy in high-risk breast cancer. In: *N Engl J Med* 338 (1998), S. 331.
- [RAG 1997] *Ragaz, J., Jackson, S.M., Le, N., Plenderleith, I.H., Spinelli, J.J., Basco, V.E., Wilson, K.S., Knowling, M.A., Coppin, C.M., Paradis, M., Coldman, A.J., Olivotto, I.A.*: Adjuvant radiotherapy and chemotherapy in node-positive premenopausal women with breast cancer. In: *N Engl J Med* 337 (1997), S. 956-962.
- [RAI 1993] *Railo, M., Nordling, S., von Boguslawsky, K., Leivonen, M., Kyllonen, L., von Smitten, K.*: Prognostic value of Ki-67 immunolabelling in primary operable breast cancer. In: *Br J Cancer* 68(3) (1993), S. 579-83.

- [REC 1995] *Recht, A., Houlihan, M.J.*: Conservative surgery without radiotherapy in the treatment of patients with early stage invasive breast cancer. A review. In: *Ann Surg* 222 (1995), S. 9–18.
- [REC 1996] *Recht, A., Come, S.E., Henderson, I.C., Gelman, R.S., Silver, B., Hayes, D.F., Shulman, L.N., Harris, J.R.*: The sequencing of chemotherapy and radiation therapy after conservative surgery for early-stage breast cancer. In: *N Engl J Med* 334 (1996), S. 1356–1361.
- [REC 1999] *Recht, A., Gray, R., Davidson, N.E., Fowble, B.L., Solin, L.J., Cummings, F.J., Falkson, G., Falkson, H.C., Taylor, S.G., Tormey, D.C.*: Locoregional failure 10 years after mastectomy and adjuvant chemotherapy with or without tamoxifen without irradiation: experience of the Eastern Cooperative Oncology Group. In: *J Clin Oncol* 17 (1999), S. 1689–1700.
- [REC 2001] *Recht, A., Edge, S.B., Solin, L.J., Robinson, D.S., Estabrook A., Fine, R.E., Fleming, G.F., Formenti, S., Hudis, C., Kirshner, J.J., Krause, D.A., Kuske, R.R., Langer, A.S., Sledge, G.W., Whelan, T.J., Pfister, D.G.*: Postmastectomy Radiotherapy: Clinical Practice Guidelines of the American Society of Clinical Oncology. In: *J Clin Oncol* 19 (5) (2001), S. 1539-1569.
- [REE 2000] *Reed, W., Hannisdal, E., Boehler, P.J., Gundersen, S., Host, H., Marthin, J.*: The prognostic value of p53 and c-erb B-2 immunostaining is overrated for patients with lymph node negative breast carcinoma: a multivariate analysis of prognostic factors in 613 patients with a follow-up of 14-30 years. In: *Cancer* 88(4) (2000), S. 804-813.
- [ROS 1995] *Rosen, P.P., Lesser, M.L., Arroyo, C.D., Cranor, M., Borgen, P., Norton, L.*: p53 in node-negative breast carcinoma: an immunohistochemical study of epidemiologic risk factors, histologic features, and prognosis. In: *J Clin Oncol* 13 (1995), S. 821-830.
- [ROT 1896] *Rotter, J.*: Günstige Dauererfolge durch ein verbessertes Operationsverfahren der Mammakarzinome. In: *Berl. klin. Wschr* 33 (1896), S. 69.

- [RUD 1994] *Rudas, M., Gnant, M.F., Mittlbock, M., Neumayer, R., Kummer, A., Jakesz, R., Reiner, G., Reiner, A.*: Thymidine labeling index and Ki-67 growth fraction in breast cancer: comparison and correlation with prognosis. In: *Breast Cancer Res Trea* 32(2) (1994), S. 165-175.
- [RUD 1999] *Rudolph, P., Olsson, H., Bonatz, G., Ratjen, V., Bolte, H., Baldetorp, B., Ferno, M., Parwaresch, R., Alm, P.*: Correlation between p53, c-erbB-2, and topoisomerase II alpha expression, DNA ploidy, hormonal receptor status and proliferation in 356 node-negative breast carcinomas: prognostic implications. In: *J Pathol.* 187(2) (1999), S. 207-216.
- [SAH 1991] *Sahin, A.A., Ro, J., Ro, J.Y., Blick, M.B., el-Naggar, A.K., Ordonez, N.G., Fritsche, H.A., Smith, T.L., Hortobagyi, G.N., Ayala, A.G.*: Ki-67 immunostaining in node-negative stage I/II breast carcinoma: significant correlation with prognosis. In: *Cancer* 68 (1991), S. 549-557.
- [SAL 1996] *Salvadori, B.*: Local recurrences after breast-conserving treatment: an open problem. In: *Semin Surg Oncol* 12(1) (1996), S. 46-52.
- [SAR 1994] *Sarkaria, J.N., Miller, E.M., Parker, C.J., Jordan, V.C., Mulcahy, R.T.*: 4-Hydroxytamoxifen, an active metabolite of tamoxifen, does not alter the radiation sensitivity of MCF-7 breast carcinoma cells irradiated in vitro. In: *Breast Cancer Res Treat* 30 (1994), S. 159–165.
- [SAR 1984] *Sarrazin, D., Lé, M., Rouessé, J., Contesso, G., Petit, J.Y., Lacour, J., Viguier, J., Hill, C.*: Conservative treatment versus mastectomy in breast cancer tumors with macroscopic diameter of 20 millimetres or less. The experience of the Institut Gustave-Roussy. In: *Cancer* 53 (1984), S. 1209.
- [SAU 1996a] *Sauer, R.*: Einfluß der lokalen Kontrolle auf das Gesamtüberleben nach brusterhaltender Therapie des Mammakarzinoms. In: *Strahlenther Onkol* 172 (1996), S. 181–185.
- [SAU 1996b] *Sauer, R., Martus, P.*: Sequenz von Chemotherapie und Radiotherapie nach brusterhaltender Behandlung des Mammakarzinoms. In: *Strahlenther Onkol* 172 (1996), S. 516–522.

- [SAU 2000] *Sauer, R., Schulz, K.-D., Hellriegel, K.-P.*: Strahlentherapie nach Mastektomie - Interdisziplinärer Konsensus beendet Kontroverse. Deutsche Gesellschaft für Senologie. In: *Strahlenther Onkol* 1 (2000), S. 1-9.
- [SCH 2001] *Schaller, G., Evers, K., Papadopoulos, S., Ebert, A., Buhler, H.*: Current use of HER2 tests. In: *Ann Oncol* 12 Suppl 1 (2001), S. 97-100.
- [SCH 1994] *Schimmelpenning, H., Eriksson, E.T., Zetterberg, A., Auer, G.U.*: Association of immunohistochemical p53 tumor suppressor gene protein overexpression with prognosis in highly proliferative human mammary adenocarcinomas. In: *World J Surg* 18 (1994), S. 827-833.
- [SES 1996] *Seshadri, R., Leong, A.S., McCaul, K., Firgaira, F.A., Setlur, V., Horsfall, D.J.*: Relationship between p53 gene abnormalities and other tumour characteristics in breast-cancer prognosis. In: *Int J Cancer*, 69(2) (1996), S. 135-41.
- [SIL 1993] *Silvestrini, R., Benini, E., Daidone, M.G., Veneroni, S., Boracchi, P., Cappelletti, V., Di Fronzo, G., Veronesi, U.*: p53 as an independent prognostic marker in lymph node-negative breast cancer patients. In: *J Natl Cancer Inst* 85 (1993), S. 965-970.
- [SIL 1996] *Silvestrini, R., Benini, E., Veneroni, S., Daidone, M.G., Tomasic, G., Squicciarini, P., Salvadori, B.*: p53 and bcl-2 expression correlates with clinical outcome in a series of node-positive breast cancer patients. In: *J Clin Oncol* 14(5) (1996), S. 1604-10.
- [SIL 1997] *Silvestrini, R., Veneroni, S., Benini, E., Daidone, M.G., Luisi, A., Leutner, M., Maucione, A., Kenda, R., Zucali, R., Veronesi, U.*: Expression of p53, glutathione S-transferase-pi, and Bcl-2 proteins and benefit from adjuvant radiotherapy in breast cancer. In: *J Natl Cancer Inst* 89(9) (1997), S. 639-45.
- [Sin 2002] *Singletery, S.*: Surgical margins in patients with early-stage breast cancer treated with breast conservation therapy. In: *The American Journal of Surgery* 184(5) (2002), S. 383-393.

- [SLA 1987] *Slamon, D.J., Clark, G.M., Wong, S.G., Levin, W.J., Ullrich, A., McGuire, W.L.*: Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. In: *Science* 235 (1987), S. 177-182.
- [SLA 1989] *Slamon, D.J., Godolphin, W., Jones, L.A., Holt, J.A., Wong, S.G., Keith, D.E., Levin, W.J., Stuart, S.G., Udove, J., Ullrich, A.*: Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. In: *Science* 244 (1989), S. 707-712.
- [SOB 1997] *Sobol, H.*: BRCA1-p53 relationship in hereditary breast cancer. In: *Int J Oncol* 10 (1997), S. 349-353.
- [STA 1995] *Stal, O., Sullivan, S., Wingren, S., Skoog, L., Rutqvist, L.E., Carstensen, J.M., Nordenskjold, B.*: c-erb-B2 expression and benefit from adjuvant chemotherapy and radiotherapy of breast cancer. In: *Eur J Cancer* 31A (1995), S. 2185-2190.
- [STE 1994] *Stenmark-Askmal, M., Stal, O., Sullivan, S., Ferraud, L., Sun, X.F., Carstensen, J., Nordenskjold, B.*: Cellular accumulation of p53 protein: an independent prognostic factor in stage II breast cancer. In: *Eur J Cancer* 30A (1994), S. 175-180.
- [STR 1992] *Straus, K., Lichter, A., Lippman, M., Danforth, D., Swain, S., Cowan, K., deMoss, E., MacDonald, H., Steinberg, S., d'Angelo, T.*: Results of the National Cancer Institute early breast cancer trial. In: *Monogr Natl Cancer Inst* 11 (1992), S. 27-32.
- [STR 1999] *Strom, E.A., McNeese, M.D.*: Postmastectomy irradiation: rationale for treatment field selection. In: *Semin Radiat Oncol* 9(3) (1999), S. 247-53.
- [TAN 1998] *Tannock, I.F.*: Conventional cancer therapy: promise broken or promise delayed? In: *Lancet* 351(2) (1998), S. 9-16.
- [THO 1989] *Thor, A.D., Schwartz, L.H., Koerner, F.C., Edgerton, S.M., Skates, S.J., Yin, S., McKenzie, S.J., Panicali, D.L., Marks, P.J., Fingert, H.J.*:

- Analysis of c-erb-B2 expression in breast carcinomas with clinical follow-up. In: *Cancer Res* 49 (1989), S. 7147-7152.
- [THO 1992] *Thor, A.D., Moore, D.H., Edgerton, S.M., Kawasaki, E.S., Reihnsaus, E., Lynch, H.T., Marcus, J.N., Schwartz, L., Chen, L.C., Mayall, B.H.*: Accumulation of p53 tumor suppressor gene protein: an independent marker of prognosis in breast cancers. In: *J Natl Cancer Inst* 84 (1992), S. 845-855.
- [TOI 1994] *Toi, M., Hoshina, S., Takayanagi, T., Tominaga, T.*: Association of vascular endothelial growth factor expression with tumor angiogenesis and with early relapse in primary breast cancer. In: *Jpn J Cancer Res* 85(10) (1994), S. 1045-1049.
- [TOI 1995] *Toi, M., Inada, K., Suzuki, H., Tominaga, T.*: Tumor angiogenesis in breast cancer: its importance as a prognostic indicator and the association with vascular endothelial growth factor expression. In: *Breast Cancer Res Treat* 36(2) (1995), S. 193-204.
- [TOI 1997] *Toi, M., Gion, M., Biganzoli, E., Dittadi, R., Boracchi, P., Miceli, R., Meli, S., Mori, K., Tominaga, T., Gasparini, G.*: Co-determination of the angiogenic factors thymidine phosphorylase and vascular endothelial growth factor in node-negative breast cancer: prognostic implications. In: *Angiogenesis* 1(1) (1997), S. 71-83.
- [TSU 1990] *Tsuda, H., Hirohashi, S., Shimosato, Y., Tanaka, Y., Hirota, T., Tsugane, S., Shiraishi, M., Toyoshima, K., Yamamoto, T., Terada, M.*: Immunohistochemical study on overexpression of c-erbB-2 protein in human breast cancer: its correlation with gene amplification and long-term survival of patients. In: *Jpn J Cancer Res* 81 (1990), S. 327-332.
- [TUB 1992] *Tubiana, M.*: The role of local treatment in the cure of cancer. In: *Eur J Cancer* 12 (1992), S. 2061-2069.
- [VAL 1978] *Valagussa, P., Bonadonna, G., Veronesi, U.*: Patterns of relapse and survival following radical mastectomy. Analysis of 716 consecutive patients. In: *Cancer* 41 (1978), S. 1170-1178.

- [VAL 1999] *Valdagni, R., Amichetti, M., Ciocca, M.*: Patterns of radiotherapy for early breast cancer in Northern Italy compared with European and national standards. In: *Radiother Oncol* 51 (1999), S. 79–85.
- [VDO 1992] *van Dongen, J.A., Bartelink, H., Fentiman, I.S., Lerut, T., Mignolet, F., Olthuis, G., van der Schueren, E., Sylvester, R., Winter, J., van Zijl, K.*: Randomized clinical trial to assess the value of breast-conserving therapy in stage I and II breast cancer, EORTC 10801 trial. In: *J Natl Cancer Inst Monogr.* (1992), S. 15-18.
- [VER 1993] *Veronese, S.M., Gambacorta, M., Gottardi, O., Scanzi, F., Ferrari, M., Lampertico, P.*: Proliferation index as a prognostic marker in breast cancer. In: *Cancer* 71(12) (1993), S. 3926-31.
- [VER 1990] *Veronesi, U., Banfi, A., Salvadori, B., Luini, A., Saccozzi, R., Zucali, R., Marubini, E., Del Vecchio, M., Boracchi, P., Marchini, S.*: Breast conservation is the treatment of choice in small breast cancer: long-term results of a randomized trial. In: *Eur J Cancer* 26 (1990), S. 668-670.
- [VIL 1995] *Villalobos, M., Aranda, M., Nunez, M.I., Becerra, D., Olea, N., Ruiz de Almodovar, M., Pedraza, V.*: Interaction between ionizing radiation, estrogens and antiestrogens in the modification of tumor microenvironment in estrogen dependent multicellular spheroids. In: *Acta Oncol* 34 (1995), S. 413-417.
- [VIS 1996] *Visscher, D.W., Sarker, F., Tabaczka, P., Crissman, J.*: Clinicopathologic analysis of bcl-2 immunostaining in breast carcinoma. In: *Mod Pathol* 9 (1996), S. 642-646.
- [WAL 1996] *Wallgren, A., Bernier, J., Gelber, R.D., Goldhirsch, A., Roncadin, M., Joseph, D., Castiglione-Gertsch, M.*: Timing of radiotherapy and chemotherapy following breast-conserving surgery for patients with node-positive breast cancer. International Breast Cancer Study Group. In: *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 35 (1996), S. 649-59.

- [WAZ 1993] *Wazer, D.E., Joyce, M., Jung, L., Band, V.*: Effects of tamoxifen on the radiosensitivity of hormonally unresponsive breast carcinoma cells. In: *Radiat Oncol Invest* 1 (1993), S. 20-28.
- [WIN 1997] *Winchester, D.J., Menck, H.R., Winchester, D.P.*: The National Cancer Data Base Report on the results of a large nonrandomized comparison of breast preservation and modified radical mastectomy. In: *Cancer* 80 (1997), S. 162-167.
- [WIN 1991] *Winstanley, J., Cooke, T., Murray, G.D., Platt-Higgins, A., George, W.D., Holt, S., Myskov, M., Spedding, A., Barraclough, B.R., Rudland, P.S.*: The long term prognostic significance of c-erbB-2 in primary breast cancer. In: *Br J Cancer* 63 (1991), S. 447-450.
- [WOL 1998] *Wolberg, W.H., Robins, H.I.*: Radiotherapy and chemotherapy in high-risk breast cancer. In: *N Engl J Med* 338 (1998), S. 329-330.
- [YAN 1999] *Yang, H.B., Chow, N.H., Sheu, B.S., Chan, S.H., Chien, C.H., Su, I.J.*: The role of bcl-2 in the progression of the colorectal adenoma-carcinoma sequence. In: *Anticancer Res* 19 (1999), S. 727-730.
- [ZEL 2000] *Zellars, R.C., Hilsenbeck, S.G., Clark, G.M., Allred, D.C., Herman, T.S., Chamness, G.C., Elledge, R.M.*: Prognostic Value of p53 for Local Failure in Mastectomy-Treated Breast Cancer Patients. In: *J Clin Oncol* 18(9) (2000), S. 1906-1913.

V Anhang

Fragebogen nach Bestrahlung der Brustwand

Name und Geburtsdatum der Patientin:

bitte entsprechende Antwort ankreuzen, evtl. vorhandene Befunde in Kopie anbei!

1. Traten während, insbesondere gegen Ende der Strahlentherapie folgende Veränderungen auf (z.B. vor Beendigung, am Ende oder erst nach Beendigung der Bestrahlung)?

keine Hautveränderung

Hautrötung, wie ein Sonnenbrand ja nein , wenn ja, wann

trockene Hautschuppung ja nein , wenn ja, wann

feuchte, nässende Hautbereiche ja nein , wenn ja, wann

2. Traten einzelne folgender Veränderungen im Bereich der bestrahlten Haut erst Monate bis Jahre nach Beendigung der Bestrahlung auf (z.B. innerhalb von 6 Monaten, zwischen 6-18 Monaten, später als 18 Monate)?

keine Hautveränderung

bräunliche Hautverfärbung, ähnlich wie Sonnenbräune

ja nein wenn ja, wann

vermehrte erweiterte kleinste Gefäße, ähnlich wie Besenreißer

ja nein wenn ja, wann

Verhärtungen der Haut bzw. des Unterhautfettgewebes

ja nein wenn ja, wann

3. Traten nach Beendigung der Bestrahlung Veränderungen der Atemfunktion auf (z.B. innerhalb von 6 Monaten, zwischen 6-18 Monaten, später als 18 Monate)?

keine Atemfunktionsänderungen

vorübergehende Luftnot, Fieber, die eine Behandlung mit Cortison notwendig machten

ja nein wenn ja, wann

deutliche dauerhafte Einschränkung der körperlichen Belastbarkeit durch Atemnot

ja nein wenn ja, wann

4. Traten Rippenbrüche ohne erkennbare auslösende Ursache auf? ja nein

5. Sind Ihnen andere Veränderungen oder Besonderheiten im Bereich der bestrahlten Brustwand aufgefallen?

.....
.....
.....
.....

6. Sind bei Ihnen erneute Probleme mit dem Brustkrebs aufgetreten? ja nein ,
wenn ja, wann

- und welche
1. gegenseitige Brust
 2. Brustwand auf der gleichen Seite
 3. Achselhöhle
 4. Knochen, Leber, Lunge, Gehirn, Sonstige

Vielen Dank für die Beantwortung unserer Fragen, Sie helfen uns, auch in Zukunft die Therapie in ihrer Wirkung und Nebenwirkungen zu verbessern.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. Wilfried Budach, ärztlicher Direktor der Klinik für Strahlentherapie und radioonkologische Onkologie des Universitätsklinikums Düsseldorf, für die Vergabe des Themas und die freundschaftliche Betreuung der Dissertation danken, die er mit stetem Interesse begleitet und mit wertvollen Hinweisen bereichert hat.

Mein ganz spezieller Dank gilt Herrn PD Dr. Thomas Hehr, ärztlicher Direktor der Strahlentherapie im Marienhospital Stuttgart, für sein stetes und nicht selbstverständliches Engagement, die erfahrene hilfreiche Begleitung, für eine hervorragende wissenschaftliche Betreuung und Anleitung während der gesamten Zeit. Seine Begeisterung für die Radioonkologie hätte mich beinahe von einer Weiterbildung in diesem Fach überzeugt.

Herrn PD Dr. Wehrmann und den Mitarbeiterinnen des pathologischen Institutes am Universitätsklinikum Tübingen meinen besten Dank für die Hilfe bei der Anfertigung und Beurteilung der histologischen Schnittpräparate.

Für die Bereitstellung von Paraffinpräparaten danke ich der Frauenklinik Tübingen; Dr. Klosa, Ärztin für Pathologie, Bühlertal; Prof. Dr. Kolkmann und Dr. Beckert, Pathologen, Kreiskrankenhaus Nürtingen; Dr. Tuczek, Pathologisches Institut Marienhospital Stuttgart; Prof. Dr. Burkhardt, Pathologisches Institut Kreiskliniken Reutlingen; Dr. Fritz, Institut für klinische Pathologie, Robert-Bosch-Krankenhaus Stuttgart; Dr. Müller und Dr. Kopf, Pathologie Überlingen, und dem Institut für Pathologie des Klinikums der Stadt Villingen-Schwenningen.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern und meinem Bruder, die mir immer Rückhalt gegeben und mich mit konstruktiver Kritik begleitet haben.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Ilona Marion Jasmin Durst
Geburtsdatum: 11. November 1977
Geburtsort: Böblingen
Eltern: Dipl. – Ing. Eugen Durst
Heidi Durst, geb. Harbrecht

Schulbildung

1984 - 1988 Eduard-Mörrike-Grundschule Böblingen
1988 - 1997 Otto-Hahn-Gymnasium Böblingen
20.07.1997 Abschluss mit der Allgemeinen Hochschulreife

Hochschulbildung

15.10.1997 Immatrikulation für Humanmedizin an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen
02.09.1999 Ärztliche Vorprüfung
29.08.2000 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
03.04.2003 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
28.04.2003 - Praktisches Jahr im Kantonsspital Winterthur, Schweiz
28.03.2004 und im Marienhospital Stuttgart
25.05.2004 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
01.10.2004 Approbation

Tätigkeit als Ärztin

01.07.2004 - Ärztin im Praktikum, Abteilung für Gynäkologie und
30.09.2004 Geburtshilfe, Robert-Bosch-Krankenhaus Stuttgart
seit 01.10.2004 Assistenzärztin, Abteilung für Gynäkologie und
Geburtshilfe, Robert-Bosch-Krankenhaus Stuttgart