

**Aus der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe
(Direktor Prof. Dr. med. Dr. h.c. W. Jonat)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel**

**Bedeutung
des Urokinasetyp-Plasminogenaktivators (uPA),
des Plasminogenaktivator-Inhibitors 1 (PAI-1) und
des Plasminogenaktivator-Inhibitors 2 (PAI-2)
beim Mammakarzinom**

**Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel**

**Vorgelegt von
NURDAN SEZER
aus Istanbul**

Kiel 2013

Dekan: Prof. Dr. med. S. Schreiber

Referent: Prof. Dr. med. Dr. h.c. W. Jonat, Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe

Korreferent: Prof. Dr. rer. nat. H. Kalthoff, Institut für Experimentelle Tumorforschung

Tag der Promotion: 19.12.2013

Inhaltsverzeichnis

Kap.		Seite
1	Einleitung	1
1.1	Definition und Klassifikation des Mammakarzinoms	1
1.2	Epidemiologie des Mammakarzinoms.....	1
1.3	Prognosefaktoren und prädiktive Faktoren	3
1.3.1	Definition und Anforderungen.....	3
1.3.2	Prognosefaktoren.....	5
1.3.2.1	Nodalstatus.....	6
1.3.2.2	Tumorgröße.....	6
1.3.2.3	Histologischer Grad	6
1.3.2.4	Lymph- und Blutgefäßeinbrüche.....	7
1.3.3	Synoptische Prognoseeinschätzung.....	7
1.3.3.1	TNM-System der Union Internationale Contre le Cancer (UICC)	7
1.3.3.2	Nottingham Prognostic Index	7
1.3.4	Prognosefaktoren und prädiktive Faktoren	8
1.3.4.1	Hormonrezeptorstatus	8
1.3.4.2	Her2-Überexpression oder –Amplifikation.....	8
1.3.4.3	Urokinase-Typ-Plasminogen-Aktivator (uPA)	8
1.3.4.4	Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-Typ-1 (PAI-1).....	12
1.3.4.5	Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-Typ-2 (PAI-2).....	16
2	Ziel der Untersuchung	18

Kap.	Seite
3	Patientinnen und Methoden19
3.1	Patientinnen..... 19
3.2	Erfasste Daten 19
3.3	Nachweis von uPA, PAI-1 und PAI-2 durch einen ELISA im Tumorgewebe der intraoperativ gewonnenen Proben..... 19
3.3.1	Gewinnung und Aufbewahrung 19
3.3.2	Bestimmung der uPA, PAI-1 und PAI-2-Gewebekonzentration 20
3.3.2.1	Tumoraufbereitung und Cytosolherstellung..... 20
3.3.2.2	Proteinbestimmung 21
3.3.2.3	Durchführung des uPA-/PAI-1-ELISAs..... 21
3.3.2.4	Auswertung 22
3.3.2.5	Cut-off-Werte..... 22
3.4	Statistik..... 23
3.5	Verwendete Geräte und Reagenzien 24
3.5.1	Geräteliste 24
3.5.2	Chemikalienliste..... 24
4	Ergebnisse 25
4.1	Alter und Menopausenstatus der Patientinnen..... 25
4.2	Rezidive und Metastasen 26
4.3	Tumorproteasen..... 26
4.4	Tumorgröße..... 29
4.5	Grading, Tumorstadium und histologischer Typ 29
4.6	Steroidhormonrezeptorstatus 31
4.7	Lymphgefäßeinbrüche..... 31
4.8	Her-2-neu 31
4.9	Korrelationen..... 32
4.10	Behandlung 34

Kap.		Seite
5	Diskussion	37
5.1	Bedeutung der Prognosefaktoren	37
5.2	Bestimmung der Tumorproteasen	37
5.3	Her-2-neu	39
5.4	Korrelationen.....	39
5.5	Prognostische Bedeutung der Tumorproteasen.....	40
5.6	Schlussfolgerung	45
6	Zusammenfassung.....	46
7	Literaturverzeichnis.....	48
8	Danksagung	71
9	Lebenslauf.....	72
10	Anhang	73

Verzeichnis der Abbildungen

Abb.	Seite
Abb. 1: Ungefähre Anteile der nodal-negativen Patientinnen zum Zeitpunkt der Diagnose eines Mammakarzinoms in verschiedenen Teilen der Welt (Harbeck und Thomssen 2011)	2
Abb. 2: Risiko eines Rezidivs in Abhängigkeit von der Anzahl der befallenen Lymphknoten (Harbeck und Thomssen 2011)	3
Abb. 3: Schematische Übersicht über die Rolle des Plasminogen Aktivator-Systems für Tumorinvasion und Metastasierung (Dutta 2007 modifiziert nach Harbeck et al. 2004).....	10
Abb. 4: Mechanismen der PAI-1-vermittelten Zellablösung von Matrixproteinen (Dutta 2007 modifiziert nach Czekay et al. 2003)	14
Abb. 5: Altersverteilung der Patientinnen.....	25
Abb. 6: Verteilung der uPa-Werte.....	27
Abb. 7: Verteilung der PAI-1-Werte.....	27
Abb. 8: Verteilung der PAI-2-Werte.....	28
Abb. 9: Verteilung der Tumorgrößen.....	29
Abb. 10: Grading.....	30
Abb. 11: Tumorstadium	30
Abb. 12: Verteilung von Östrogen-Score und Progesteron-Score	31
Abb. 13: Her-2-neu Überexpression	32
Abb. 14: Korrelation zwischen uPa und PAI-1	34
Abb. 15: Korrelation zwischen uPa und PAI-2.....	34
Abb. 16: Korrelation zwischen PAI-1und PAI-2	35

Verzeichnis der Tabellen

Tab.	Seite
Tab. 1: Anforderungen an relevante prognostische/prädiktive Faktoren (Decker et al. 2009 modifiziert nach Henderson und Patek 1998)	4
Tab. 2: Bestimmung des „Nottingham Prognostic Index“ (NPI) (Decker et al. 2009)	7
Tab. 3: Alter der Patienten.....	25
Tab. 4: Tumorproteasen.....	28
Tab. 5: Korrelationen nach Spearman, angegeben ist der Korrelationskoeffizient r und die Signifikanz p	33
Tab. 6: Behandlung.....	36
Tab. 7: Studien zur Bestimmung von Tumorproteasen bei Patientinnen mit Mammakarzinomen.....	38
Tab. 8: uPA als Prognosemarker für Patientinnen mit nodal-negativen Mammakarzinomen, angegeben sind die p-Werte nach univariater und multivariater Analyse	42
Tab. 9: PAI-1 als Prognosemarker für Patientinnen mit nodal-negativen Mammakarzinomen, angegeben sind die p-Werte nach univariater und multivariater Analyse	43
Tab. 10: PAI-2 als Prognosemarker für Patientinnen mit nodal-negativen Mammakarzinomen, angegeben sind die p-Werte nach univariater und multivariater Analyse	44
Tab. 11: Prognosefaktoren beim primären Mammakarzinom (AGO 2011).....	73
Tab. 12: Prognosefaktoren beim nodal-negativen primären Mammakarzinom (AGO 2011)	74
Tab. 13: Oxford Levels of Evidence (LOE) (AGO 2010).....	75
Tab. 14: Oxford Grades of Recommendation (GR) (AGO 2010).....	76
Tab. 15: AGO Grades of Recommendation (AGO 2010).....	76

1 Einleitung

1.1 Definition und Klassifikation des Mammakarzinoms

Mammakarzinome sind maligne epitheliale Neoplasien der Brust, die von den Epithelien der Milchgänge (duktales Karzinom) oder von den Zellen der lobulären Drüsenendstücke (lobuläres Karzinom) ausgehen. Daneben existieren seltenere Sonderformen.

Es wird zwischen in situ Karzinomen und invasiven Karzinomen unterschieden. In situ Karzinome weisen keine Stromainvasion auf, sind also nicht in das umgebende Bindegewebe eingebrochen. Daneben existieren invasive Sonderformen wie medulläre, tubuläre, papilläre, muzinöse und adenoid-zystische Karzinom. In ihrer Reinform haben diese meist eine bessere Prognose.

Das invasiv duktales Mammakarzinom ist mit einem Anteil von 40-75% am häufigsten (Nährig et al. 2007).

1.2 Epidemiologie des Mammakarzinoms

Das Mammakarzinom ist in den westlichen Ländern die häufigste Tumorerkrankung der Frau. Es macht in Deutschland bei Frauen 29,3 % der Krebsneuerkrankungen und 17,6 % aller weiblichen Krebstodesfälle aus (RKI 2010a). Weltweit stieg die Inzidenz in den letzten zwanzig Jahren stark an, wobei deutliche regionale Unterschiede bestehen. In Deutschland erkranken nach Schätzungen der regionalen Krebsregister im Jahr etwa 46.000 Frauen. Dies entspricht einer Inzidenz von etwa 110 Neuerkrankungen pro 100.000 Frauen pro Jahr. Ungefähr jede 10. Frau erkrankt in Deutschland im Verlauf ihres Lebens an einem Mammakarzinom. Die Inzidenz steigt mit zunehmendem Alter an (Engel et al. 2007). Der Anteil der Patientinnen mit einem nodal-negativen Mammakarzinom unterscheidet sich in verschiedenen Weltregionen. Höher ist der Anteil in den Regionen, in denen das Mammographiescreening eingeführt worden ist (Harbeck und Thomssen 2011) (Abb. 1).

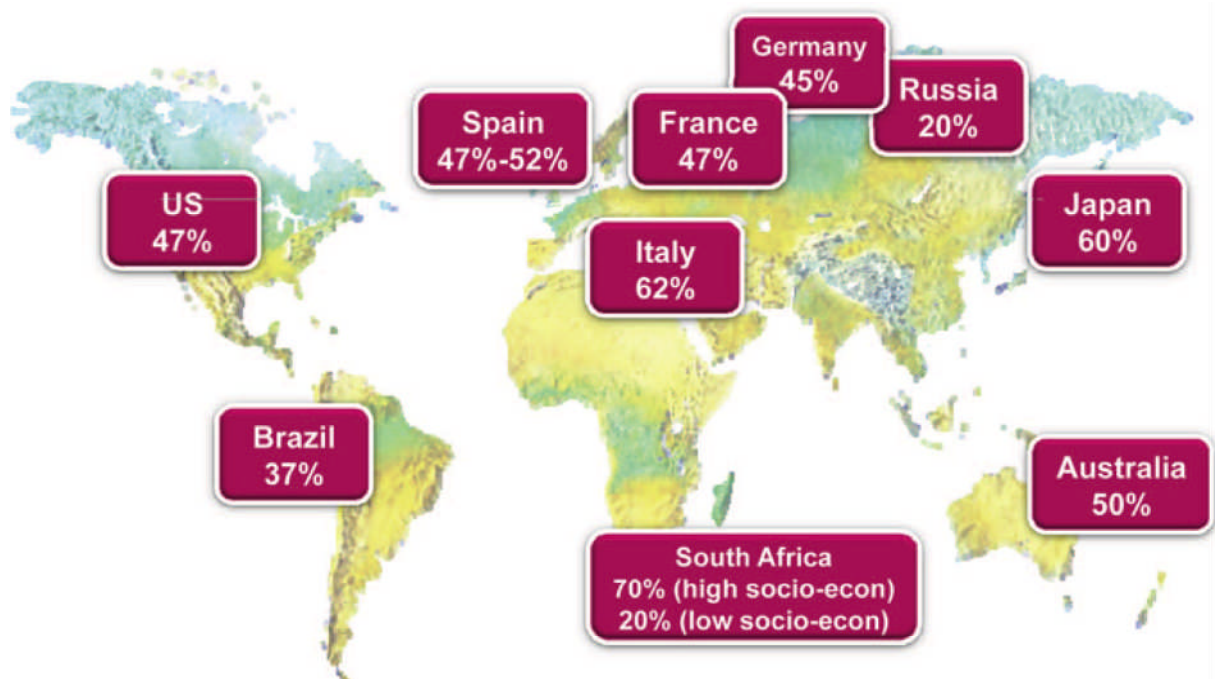


Abb. 1: Ungefähre Anteile der nodal-negativen Patientinnen zum Zeitpunkt der Diagnose eines Mammakarzinoms in verschiedenen Teilen der Welt (Harbeck und Thomssen 2011)

Die Prognose ist trotz des eher langsamen Tumorwachstums eher ungünstig. So starben 2008 in Deutschland 17.345 Patienten am Mammakarzinom (Statistisches Jahrbuch 2010). In Deutschland, Frankreich, Finnland und den USA ist Brustkrebs die häufigste krebsbedingte Todesursache bei Frauen (RKI 2010b). Die Mortalität beträgt in Deutschland etwa 44,5 Todesfälle pro 100.000 Frauen pro Jahr. Die Fünf-Jahres-Überlebensrate liegt bei etwa 76,9 %, die Zehn-Jahres-Überlebensrate bei 60,7 % und die 15-Jahres-Überlebensrate bei 47,6 %. Die Überlebensrate ist in erster Linie vom Stadium der Erkrankung bei Diagnosestellung abhängig. Die Prognose wird zudem vom Lymphknotenstatus der Patientin beeinflusst. Bei nodal-negativen Patientinnen liegt kein Befall der axillären Lymphknoten vor und die Prognose ist günstiger als bei nodalpositiven Patientinnen. Das Rezidivrisiko wird durch verschiedene Prognosefaktoren eingeschätzt u.a. an Hand von der Anzahl der befallenen Lymphknoten in der Axilla. (Engel et al. 2007) (Abb. 2).

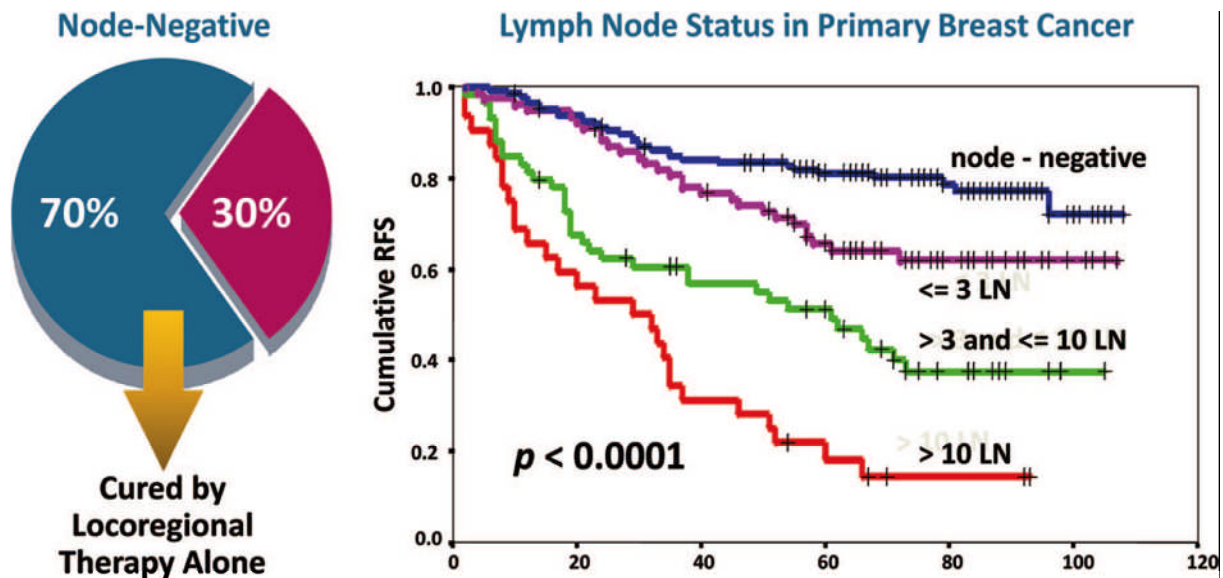


Abb. 2: Risiko eines Rezidivs in Abhängigkeit von der Anzahl der befallenen Lymphknoten (Harbeck und Thomssen 2011)

1.3 Prognosefaktoren und prädiktive Faktoren

1.3.1 Definition und Anforderungen

Prognosefaktoren und prädiktive Faktoren werden wie folgt voneinander abgegrenzt (Decker et al. 2009):

- Prognosefaktoren geben zum Diagnosezeitpunkt Informationen über den Krankheitsverlauf (Rezidivfreiheit und Gesamtüberleben), die unabhängig von der Therapie sind. Sie reflektieren die Fähigkeit des Tumors zur Proliferation, Invasion und Metastasierung.
- Prädiktive Faktoren sagen die Wahrscheinlichkeit des Ansprechens eines Tumors auf eine bestimmte Therapie voraus. Sie sind entweder selbst Angriffspunkt der Therapie, oder ihre Expression ist ein Epiphänomen der Therapiewirksamkeit bzw. -resistenz.

Prognosefaktoren sind also Messgrößen, die eine Aussage über den zu erwartenden Krankheitsverlauf ermöglichen. Damit kann eine prognoseorientierte Therapieempfehlung abgeleitet werden. Prognostische oder prädiktive Faktoren sind dann klinisch relevant, wenn sich durch

sie eine Verbesserung des Gesamtüberlebens, des rezidivfreien Überlebens oder der Lebensqualität erzielen lässt (Hayes et al. 1998, Henderson und Patek 1998).

Nach Clark (2000) werden Patientinnen unterschieden,

- deren Prognose nach lokaler Behandlung (nur Operation oder Operation und Radiatio) so gut ist, dass eine adjuvante systemische Therapie keine weiteren Vorteile bringt,
- deren Prognose nach üblicher Behandlung so schlecht ist, dass ggf. aggressivere Therapieformen indiziert sind und
- die von spezifischen Therapieformen wahrscheinlich profitieren oder nicht profitieren werden.

Um eine individuelle, risikoadaptierte Therapie zu ermöglichen, wird daran gearbeitet weitere Parameter zu entdecken, die eine prognostische Bedeutung haben. In der Literatur werden bereits viele potenzielle neue Prognosefaktoren diskutiert (Rack et al. 2007). Die zur Diskussion gestellten Faktoren können nach einem 1998 von Henderson gemachten Vorschlag, der inhaltlich von internationalen Konsensusgremien übernommen wurde (Altman 2001), bewertet werden (Tab. 1).

Tab. 1: Anforderungen an relevante prognostische/prädiktive Faktoren (Decker et al. 2009 modifiziert nach Henderson und Patek 1998)

Kriterium	Anforderungen
Zugänglichkeit	Rasche und einfache Bestimmbarkeit in der Routine Vertretbare Kosten Reproduzierbarkeit
Definition der klinischen Information	Aussage prognostisch, prädiktiv oder beides Reproduzierbare(r) Wert(e) für „günstige“ oder „ungünstige“ Aussage
Relevanz der klinischen Information	Information nicht durch bereits vorliegenden Faktor zugänglich Information ermöglicht Therapieentscheidung innerhalb einer durch andere Faktoren definierten Patientensubgruppe

Neue Prognosefaktoren spiegeln die Tumorbilogie wider und hängen mit typischen Charakteristika maligner Prozesse zusammen, wie rasche Proliferation, invasives Wachstum,

hämatogene Streuung und Metastasenbildung. Neben zellkinetischen Parametern, Onkogenen, Wachstumsfaktoren, Tumorzellen im Knochenmark und Markern für die Angiogenese werden tumorassoziierte Proteasen wie Urokinase-Typ-Plasminogen-Aktivator, Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-Typ-1, Kathepsin B und L und Metalloproteasen intensiv untersucht (Graeff et al. 1991, Jänicke 1994, McGuire und Clark 1992, Schmitt et al. 1992, Yamashita et al. 1995). Der Nutzen eines prognostischen Markers hängt nicht allein von seiner statistischen Signifikanz, sondern auch von dessen prognostischer Stärke ab, also der Höhe des relativen Risikos eines ungünstigen Verlaufs derjenigen Patientinnen, die den Marker aufweisen (Hayes 2000).

Vor der Einführung eines neuen Prognosefaktors in die klinische Routine müssen dessen Bedeutung für Krankheitsverlauf, Lebensqualität oder Behandlungskosten analysiert werden. Ein neuer Prognosefaktor kann nur dann anerkannt werden, wenn seine Relevanz statistisch einwandfrei durch eine multivariate Analyse und reproduzierbar in unabhängigen Studien belegt wird (Rack et al. 2007). Die Bewertung erfolgt in mehreren Schritten (Rack et al. 2007 modifiziert nach McGuire 1991):

1. Biologische Hypothese.
2. Einfache, standardisierte und reproduzierbare Nachweismethode mit Qualitätssicherung.
3. Biostatistische Planung der Evaluierungsstudien.
4. Überprüfung der Korrelation zu etablierten Faktoren.
5. Optimierte Schwellenwerte zur Unterscheidung in Niedrig- und Hochrisikogruppen.
6. Uni- und multivariate Analyse zur Bestimmung der Unabhängigkeit und Gewichtung der Faktoren.
7. Unabhängige Validierung der Ergebnisse in einem anderen Patientenkollektiv durch eine andere Forschergruppe.
8. Klinische Studie/ Therapiestudie, Metaanalyse.
9. Überführung in die klinische Praxis.

1.3.2 Prognosefaktoren

Zur Beurteilung der klinischen Prognose wird in den verschiedenen internationalen Konsensus-Gremien übereinstimmend die Bestimmung von (Primär-)Tumorgröße, Nodalstatus, histologischem Tumortyp, Grading und Steroidhormonrezeptorstatus empfohlen.

In den aktuellen Richtlinien Oxford Level der Evidenz (LOE), Oxford Grades of Recommendation (GR) und AGO Grades of Recommendation (AGO = deutsche Arbeitsgemeinschaft für Gynäkologische Onkologie) liegen Empfehlungen zu den einzelnen Prognoseparametern vor (AGO 2011) (siehe Tab. 11, Anhang).

1.3.2.1 Nodalstatus

Der Nodalstatus ist der wichtigste prognostische Faktor (Rack et al. 2007). Ein axillärer Lymphknotenbefall führt zu einer 4-8fach höheren Mortalität. Aufgrund des hohen Rezidivrisikos wird eine adjuvante systemische Therapie empfohlen (Arriaga et al. 2006). Gemäß der US-amerikanischen SEER- (Surveillance, Epidemiology, and End Results) Datenbank betrug die Fünfjahresgesamtüberlebensrate bei nodal-negativen Patientinnen aller Tumorgößen 92 %. Bei nodal positiven Patientinnen lag sie bei 1 – 3 Lymphknoten bei 81 % und bei mindestens 4 Lymphknoten bei 57 % (Carter et al. 1989). Mit dem Nodalstatus allein ist es aber nicht möglich, die weitere Therapie festzulegen (Decker et al. 2009).

1.3.2.2 Tumorgroße

Nach der SEER-Datenbank besteht bei nodal-negativen Patientinnen eine Korrelation zwischen Tumorgroße und Prognose. Das Fünfjahresgesamtüberleben betrug bei Durchmessern unter 10 mm 99 %, bei 10-30 mm 89 % und bei 30-50 mm 86 % (Carter et al. 1989). Bei kleineren Patientengruppen mit Beobachtungszeiten von über 20 Jahren zeigten sich vergleichbare Ergebnisse (Quiet et al. 1995, Rosen et al. 1993).

1.3.2.3 Histologischer Grad

Das Nottingham-Grading ist international am weitesten verbreitet (Elston und Ellis 1991). Die Differenzierungsgrade 1 (gut-), 2 (mäßig-) und 3 (schlecht differenziert) richten sich nach glandulärer Differenzierung, Kernpolymorphie und Mitosezahl pro definierter Fläche. Die Reproduzierbarkeit ist wegen der Objektivierung sehr hoch (Frierson et al. 1995). Die prognostische Relevanz entspricht nahezu dem Nodalstatus oder der Tumorgroße (Dalton et al. 2000, Elston und Ellis 2002). Das Grading wird im Nottingham Prognostic Index (NPI) (Haybittle et al. 1982) mit Kategorien des Stagings zusammengefasst (siehe Kap. 1.3.3.2).

1.3.2.4 Lymph- und Blutgefäßeinbrüche

Lymph- und Blutgefäßinvasion weisen auf Lokal- und Fernrezidive hin (Fisher et al. 1988, Rosen et al. 1993). Obwohl das Risiko eines Rezidivs um das 1,5- – 2fache erhöht ist, wird der Einsatz nur eingeschränkt empfohlen (Goldhirsch et al. 2007).

1.3.3 Synoptische Prognoseeinschätzung

Keiner der beschriebenen Prognosefaktoren ist alleine zur Prognose geeignet. In unterschiedlichen Ansätzen wurden daher mehrere Prognosefaktoren zusammengeführt. Die Ansätze unterscheiden sich in der Methodik und in ihrer klinischen Relevanz (Decker et al. 2009).

1.3.3.1 TNM-System der Union Internationale Contre le Cancer (UICC)

Die Stadieneinteilung nach der TNM-Klassifikation besitzt eine hohe prognostische Relevanz. Sie ist daher Grundlage jeder Prognoseeinschätzung und sollte im Kontext mit den anderen Prognosefaktoren betrachtet werden (Decker et al. 2009).

1.3.3.2 Nottingham Prognostic Index

Der Nottingham Prognostic Index (NPI) vereint mit Nodalstatus, Grad und Durchmesser die stärksten intrinsischen Prognosefaktoren unter Berücksichtigung ihrer unterschiedlichen Gewichte (Lee und Ellis 2008) (Tab. 2).

Tab. 2: Bestimmung des „Nottingham Prognostic Index“ (NPI) (Decker et al. 2009)

Komponente	Wert	Bezug
Nodalstatus	1	0 LK mit Metastasen
	2	1–3 LK mit Metastasen
	3	>3 LK mit Metastasen
Grad	1	Nottingham-Score 3–5
	2	Nottingham-Score 6–7
	3	Nottingham-Score 8–9
Durchmesser	0,2×Durchmesser	Durchmesser

$$\text{NPI} = \text{Nodalstatus} (1 - 3) + \text{Grad} (1 - 3) + (\text{Durchmesser in cm} \times 0,2)$$

Der NPI ist der einzige prognostische Index mit prospektiver intra- und interinstitutioneller Validierung (D'Eredita et al. 2001, Lundin 2007), zuletzt an 6711 Patientinnen aus 12 europäischen Brustzentren (D'Eredita et al. 2001, Lee und Ellis 2008, Lundin 2007).

1.3.4 Prognosefaktoren und prädiktive Faktoren

1.3.4.1 Hormonrezeptorstatus

Das Fehlen des Östrogenrezeptors (ER) führt zu einer 1,5-2fachen Erhöhung des Rezidivrisikos und der tumorspezifischen Mortalität (McGuire et al. 1990). Der ER ist ein starker prädiktiver Faktor für die adjuvante endokrine Therapie (Harris et al. 2007). Die prognostische Vorhersagekraft nimmt mit der Dauer der Nachbeobachtungszeit ab und wird von der adjuvanten Therapie beeinflusst (Rack et al. 2007).

1.3.4.2 Her2-Überexpression oder –Amplifikation

Das Rezidiv- und Mortalitätsrisiko ist bei nodal-negativen Patientinnen mit Her2-Positivität leicht um das 1- bis 1,5fache erhöht (Decker et al. 2009). Ein positiver HER-2/neu-Status ist prädiktiv für das Ansprechen auf eine Therapie mit Trastuzumab (Herceptin™) oder Lapatinib (Tykerb™). Die Bestimmung ist daher ein fester Bestandteil der Primärdiagnostik des Mammakarzinoms (Wolff et al. 2007).

1.3.4.3 Urokinase-Typ-Plasminogen-Aktivator (uPA)

Vorkommen, Regulation und physiologische Funktionen:

Zu dem proteolytischen Urokinase-Typ Plasminogen Aktivator-System gehören die Serin-Protease Urokinase-Typ Plasminogen Aktivator (uPA), deren Rezeptor uPAR (CD 87) und deren Inhibitoren Plasminogen Aktivator Inhibitor 1 (PAI-1) und 2 (PAI-2). Diese werden von benignen Körperzellen gebildet (Schmitt et al. 1997a, Vetter et al. 2007).

Der Gewebe-Typ-Plasminogen-Aktivator (tPA) ist ebenfalls ein Plasminogen-Aktivator. uPA wurde erstmalig in Urinextrakten und tPA in Gewebeextrakten nachgewiesen (Wilhelm et al. 1994). Beide Proteasen wurden auch in vielen anderen Geweben und Organen gefunden. uPA fand sich unter anderem in Brustdrüsengewebe und im weiblichen Genitaltrakt nachgewiesen, in höchster Konzentration im Myometrium, in Zervix und Ovarien und in zyklischer Aktivität im Endometrium (Camiolo et al. 1987).

uPA ist beteiligt an der Modifikation von Gewebestrukturen, Zellwanderung, Makrophagenmigration, zellulären Signalvermittlung, Wundheilung, Immunabwehr, Angiogenese, Prostatainvolution, Brustdrüseninvolution nach Stillperioden, Ovulation, Biastozyten-Implantation und der frühen embryonalen Entwicklung (Alfano et al. 2005, Behrendt et al. 1990, Blasi 1999, Conese und Blasi 1995). Zudem katalysiert uPA die Umwandlung von Plasminogen in das fibrinolytisch wirkende Plasmin. Auch baut uPA direkt Proteine der extrazellulären Matrix (EZM) ab, wie z. B. Fibronectin (Conese und Blasi 1995).

Aufbau:

uPA ist ein Glykoprotein, welches als katalytisch inaktive Vorstufe pro-uPA sezerniert und daraufhin über eine limitierte Proteolyse aktiviert wird. Man unterscheidet verschiedene Formen wie Low- und High-molecular-uPA, rezeptorgebundenes und freies uPA, inaktives und aktives uPA.

Pro-uPA liegt meist als High-molecular-uPA vor, welches aus einer Kette und drei Domänen besteht: Epidermal-Growth-Factor (EGF)-ähnliche Domäne, Kringle-Domäne und Serinproteasen-Domäne. Die EGF-Domäne ist zwar in ihrer Struktur dem EGF-Rezeptor ähnlich, kann aber EGF nicht binden (Wilhelm et al. 1994). Die Bindungsstelle für den uPA-Rezeptor liegt in dieser Region (Behrendt et al. 1990). In der Kringle-Domäne liegt eine Bindungsstelle für Heparin und Benzamidin. Die Serinproteasen-Domäne ist enzymatisch aktiv (Wilhelm et al. 1994).

Low-molecular-uPA besteht nur aus der Serinproteasen-Domäne und kann damit nicht an seinen zellgebundenen Rezeptor binden (Conese und Blasi 1995, Wilhelm et al. 1994). Pro-uPA wird durch Thrombin oder Elastase in eine inaktive Form überführt. Dagegen wird es durch Plasmin, Kallikrein und Kathepsin B und L aktiviert. Dabei entsteht eine zweikettige Form mit A- und B-Kette, die über eine Disulfid-Brücke miteinander verbunden sind (Wilhelm et al. 1994).

Pathophysiologie:

Aktiviertes uPA überführt Plasminogen in Plasmin und startet damit die fibrinolytische Kaskade. Dabei kann das uPA in der extrazellulären Matrix (EZM) frei gelöst oder auch über seinen Rezeptor an die Zellwand gebunden sein. Rezeptorgebundenes uPA wird allerdings weniger durch seine Inhibitoren gehemmt (Ellis et al. 1990) und kann damit eine intensivere Fibrinolyse auslösen. Zusätzlich werden weitere Wachstumsfaktoren aktiviert oder beim proteolytischen Abbau der EZM freigesetzt, darunter der Hepatozyten-Wachstumsfaktor/

Scatterfaktor HGF/SF, VEGF, Insuline-like GF-1, FGF2 und TGF (Alfano et al. 2005, Andreasen et al. 1997, Rifkin 1997). Durch die Plasminaktivierung werden nicht nur die Matrixproteine Fibrin, Fibronectin, Laminin, Vitronectin und Proteoglykane proteolytisch abgebaut, sondern auch Matrixmetalloproteasen (MMPs) aktiviert, die zum Abbau von Kollagen führen.

Die Bindung von uPA an uPAR regt über unterschiedliche Mechanismen Zellproliferation (Webb et al. 2001), Chemotaxis (Degryse et al. 2001), Zellmotilität und Adhäsion an (Schmitt et al. 2000, Kjølner 2002) und ist möglicherweise an der Hemmung der Apoptose beteiligt (Ma et al. 2001, Alfano et al. 2005). Die erhöhte Aktivität führt zu einer Verstärkung von Proteolyse, Migration, Adhäsion, Neoangiogenese und damit Gewebsinvasion und Metastasierung (Andreasen et al. 1997, Chazaud et al. 2002, Gutierrez et al. 2000).

Nicht alle Komponenten des uPA-Systems werden von den malignen Zellen selbst exprimiert. Dies kann z. B. auch durch Stromazellen nach Induktion durch die Krebszellen erfolgen (Dellas und Loskutoff 2005, Danø et al. 2005) (Abb. 3).

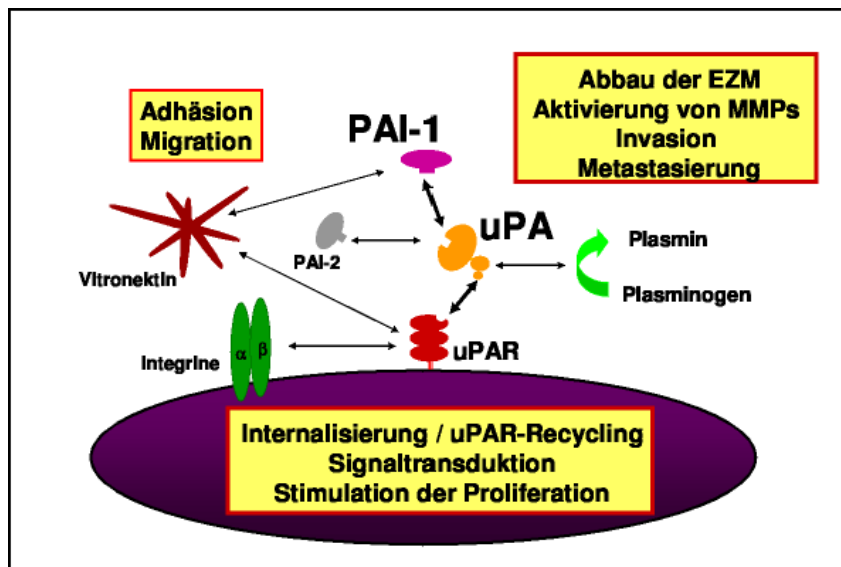


Abb. 3: Schematische Übersicht über die Rolle des Plasminogen Aktivator-Systems für Tumorinvasion und Metastasierung (Dutta 2007 modifiziert nach Harbeck et al. 2004)

Eine erhöhte uPA-Aktivität wurde bereits in zahlreichen malignen Tumoren festgestellt, darunter Mamma-, Kolorektum-, Magen-, Oesophagus-, Bronchial-, Prostata-, Endometrium- und Ovarialkarzinomen, malignen Melanomen und bei akuten Leukämien (Camiolo et al.

1987, Conese und Blasi 1995, Wilhelm et al. 1994). Eine Übersicht findet sich bei Schmitt et al. (2010).

Prognostische Relevanz:

Bereits 1988 wurde gezeigt, dass erhöhte uPA-Werte in primärem Brustkrebsgewebe mit einem hoch invasiven Phänotyp und schlechter Prognose verbunden sind (Duffy et al. 1988). Dies konnte in zahlreichen weiteren Studien bestätigt werden (Broët et al. 1999, Candia et al. 2006, Castelló et al. 2002, De Cremoux et al. 2009, Duffy et al. 1990, 1994, 1998, Eppenberger et al. 1998, Fernö et al. 1996, Fersis et al. 1996, Foekens et al. 1992, Grøndahl-Hansen et al. 1993, Hansen et al. 2003, Harbeck et al. 1998, 1999, 2000, 2002a, Jänicke et al. 1990, 1991, 1993, 1994, Kim et al. 1998, Knoop et al. 1998, Look et al. 2002, 2003, Luqmani et al. 2002, Manders et al. 2004a, 2004b, Pedersen et al. 2000, 2003, Peyrat et al. 1998, Schmitt et al. 1990, 1997b, Schrohl et al. 2004, Shiba et al. 1997, Spyrtos et al. 2002, Umeda et al. 1997).

uPA und PAI-1 haben bereits alle Schritte zum Prognosefaktor (siehe Kap. 1.3.1) durchlaufen (Harbeck et al. 2004, Schrohl et al. 2003):

1. Die bedeutende Rolle der beiden Faktoren bei Tumorinvasion und Metastasierung konnte in zahlreichen Experimenten nachgewiesen werden (Andreasen et al. 1997).
2. Standardisierte, qualitätsgeprüfte ELISAs quantifizieren uPA und PAI-1 in Primärtumor-Extrakten (Sweep et al. 1998).
- 3.- 6. Ein klinischer Überlebensvorteil von Patientinnen mit niedrigen Werten vs. hohen Werten von uPA/PAI-1 wurde vielfach bestätigt (Übersichten in Duffy und Duggan 2004, Harbeck und Thomssen 2003, Harbeck et al., 2004, 2007, Schmitt et al. 2010, Vetter et al. 2007).
- 7., 8. Nachweis und Bestätigung der prognostischen Eigenschaft erfolgten in einer retrospektiven, gepoolten Analyse (Look et al. 2002, 2003) und einer prospektiv durchgeführten randomisierten Multicenter-Therapiestudie (Chemo N0) mit nodal-negativen Patientinnen (Jänicke et al. 2001).
9. Patientinnen mit hohen uPA/PAI-1-Werten unterliegen einem hohen Rezidivrisiko, vergleichbar mit dem Befall von drei oder mehr axillären Lymphknoten. Daher profitieren sie besonders von einer adjuvanten Chemotherapie (Annecke et al. 2008, Borstnar et al. 2010, Jänicke et al. 2001, Harbeck et al. 2002a, 2002b, Harbeck und Thomssen 2011, Manders et al. 2004a). Zusätzlich zur Chemo N0 Studie konnte in

einer großen retrospektiven Studie für die durch uPA/PAI-1 charakterisierten Hochrisikopatientinnen ein Vorteil durch adjuvante Chemotherapie aufgezeigt werden (Harbeck et al. 2002a). Zudem stellen uPA und PAI-1 vielversprechende Angriffsziele für eine zielgerichtete Therapie dar (Schmitt et al. 2000, Alfano et al. 2005).

1.3.4.4 Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-Typ-1 (PAI-1)

Vorkommen und physiologische Funktionen:

PAI-1 gehört zu den Serpinen welche in der Lage sind, die Enzymaktivität von Serinproteinasen zu blockieren. Durch die Hemmung von Plasminogen-Aktivatoren spielt PAI-1 eine entscheidende Rolle bei der Kontrolle der extrazellulären Proteolyse und im fibrinolytischen System (Pappot et al. 1995). Es inhibiert vor allem, ungebundenes uPA. Weniger stark werden freie und zellgebundene uPA:uPA-Rezeptor-Komplexe (Ellis et al. 1990) und Plasmin (Conese und Blasi 1995, Wilhelm et al. 1994) gehemmt. Serpine inhibieren ihre Zielproteasen durch Imitierung von deren Substraten. PAI-1 weist für uPA eine ähnliche Bindungsstelle wie Plasminogen auf (Pappot et al. 1995). Die Bindung von uPA an PAI-1 führt zur Bildung von uPA:PAI-1-Komplexen, die darauf endozytiert werden (Andreasen et al. 1997, Wilhelm et al. 1994). uPA:uPA-Rezeptor:PAI-1-Komplexe werden ebenfalls endozytiert. Intrazellulär kommt es zum lysosomalen Abbau der Komplexe (Andreasen et al. 1997, Conese und Blasi 1995, Wilhelm et al. 1994).

PAI-1 wird von verschiedenen Zellen wie z. B. den Gefäßendothelzellen und Thrombozyten synthetisiert und sezerniert. Es findet sich sowohl in der EZM als auch im Plasma (Conese und Blasi 1995, Pappot et al. 1995, Wilhelm et al. 1994). Die höchsten Konzentrationen liegen in Leber und Milz vor (Pappot et al. 1995).

Aufbau:

PAI-1 ist ein einkettiges Glycoprotein mit einer Masse von etwa 50 kDa, das in seiner biologisch aktiven Form von Endothelzellen, Blutplättchen und verschiedenen Tumorzellen sezerniert wird. PAI-1 ist metastabil und geht spontan in eine latente, inaktive Konformation über. In vivo wird die biologisch aktive Form allerdings durch Bindung an Vitronectin stabilisiert, bzw. die latente Form wird in die aktive Form überführt. Der größte Teil des extrazellulären PAI-1 liegt daher gebunden an Vitronectin vor (Conese und Blasi 1995, Wilhelm et al. 1994). Diese PAI-1-Vitronectin-Komplexe sind ein wichtiger Bestandteil der EZM. PAI-1 existiert noch in drei weiteren Formen. Es handelt sich dabei um die aktive

Form, die sezerniert wird, die inaktiv-latente Form, die die Bindungsstelle für uPA in Schleifen verbirgt und wieder reaktiviert werden kann und schließlich die Substrat-Form, die an der reaktiven Stelle aufgespalten wurde und mit uPA keine stabilen Komplexe mehr bilden kann (Pappot et al. 1995).

Regulation und Pathophysiologie:

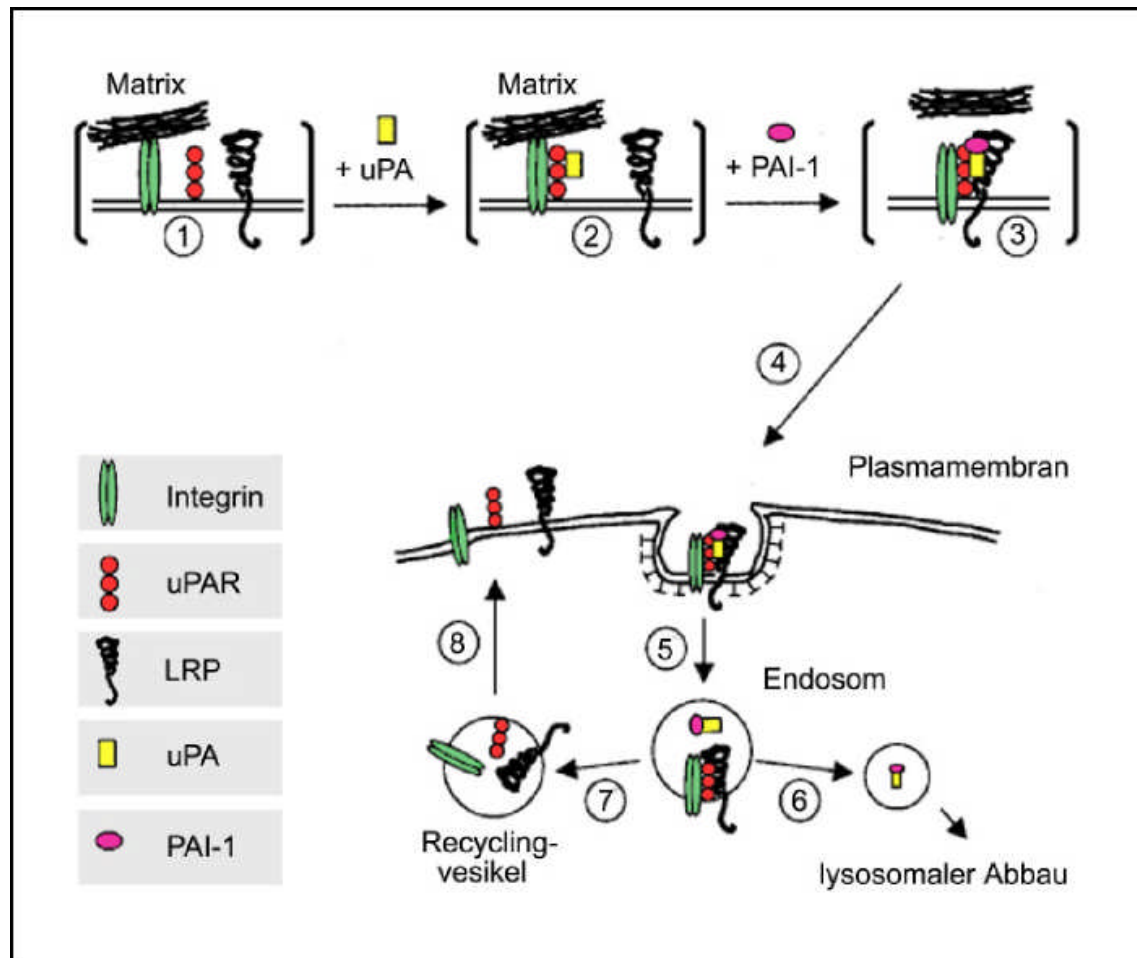
Die PAI-1-Aktivität wird auf mehreren Ebenen reguliert. Freies PAI-1 und auch PAI-1-Vitronectin-Komplexe können durch Thrombin, aktiviertes Protein C (APC) und Elastase mittels Proteolyse inaktiviert werden. Die Synthese von PAI-1 wird durch zahlreiche Zytokine, Wachstumsfaktoren, Hormone, Endotoxine und Phorbolester reguliert (Pappot et al. 1995).

Ein erhöhter PAI-1-Gehalt in malignen Mammatumoren im Vergleich zu benignem Mammagewebe wurde vielfach nachgewiesen (Fersis et al. 1996, Grøndahl-Hansen et al. 1993, Jänicke et al. 1991, 1993, Mayerhofer et al. 1996, Reilly et al. 1992, Sumiyoshi et al. 1991). Dabei korreliert bei malignen Mammatumoren der Gehalt an PAI-1 signifikant mit dem uPA-Gehalt des Gewebes (Bouchet et al. 1994, Constantini et al. 1996, Fersis et al. 1996, Foekens et al. 1994, Grøndahl-Hansen et al. 1993, Jänicke et al. 1993, Luqmani et al. 2002, Manders et al. 2004a, 2004b, Meo et al. 2004, Reilly et al. 1992).

Zunächst erscheint es paradox, dass die Konzentration von PAI-1, dem Inhibitor des proteolytischen uPA, mit einer Verschlechterung der Prognose korreliert (Beaulieu et al. 2007). Tatsächlich wirkt PAI-1 aber eher bedarfsgerecht modulierend, als insgesamt hemmend auf Proteolyse und Zellmigration (Durand et al. 2004). Zudem modifiziert PAI-1 die Signaltransduktion des uPAR und weiterer Rezeptoren sowie daran gekoppelte Effekte, wie Mitose und Zellmotilität. Dies geschieht durch die Bindung von PAI-1 an uPA, welches selbst an uPAR gebunden ist und die nachfolgende Endozytose des resultierenden Komplexes [PAI-1-uPA-uPAR]. Die Signale des uPAR und weiterer an der Endozytose beteiligten Rezeptoren werden so beeinflusst (Webb et al. 2001).

Eine Adhäsion von Zellen an das Matrixprotein Vitronectin ist über das Oberflächenprotein uPAR möglich und/oder auch über die Integrine. PAI-1 hemmt kompetitiv die Bindung von uPAR und 3- und 5-Integrinen an Vitronectin, unabhängig von seiner inhibitorischen Wirkung (Andreasen et al. 1997, Deng et al. 2001). Zudem bewirkt PAI-1 in vitro durch Bindung an uPA im [PAI-1-uPA-uPAR-Integrin]-Komplex eine Loslösung dieses Komplexes von Vitronectin. Die Interaktion zwischen dem Komplex-gebundenen Integrin ([PAI-1-uPA-uPAR-Integrin]) und Vitronectin kann durch die PAI-1-vermittelte Deaktivierung der

Integrine verhindert werden. Es findet eine Ablösung der Tumorzelle von Vitronektin und in geringerem Ausmaß auch von Fibronektin und Typ 1-Kollagenfasern statt. Außerdem regt PAI-1 die LRP-(LDL-Rezeptorassoziiertes Lipoprotein)-vermittelte Endozytose der im Komplex befindlichen Oberflächenproteine an. Diese stehen dadurch zum Rücktransport an die Zelloberfläche für weitere Bindungen mit Bestandteilen der EZM vorübergehend nicht zur Verfügung. uPA und PAI-1 werden in Lysosomen abgebaut (Czekay et al. 2003) (Abb. 4).



1. Integrin, gebunden an Matrixprotein (z. B. Vitronektin), uPAR und LDL-Rezeptor-assoziiertes Lipoprotein (LRP) jeweils freistehend an der Zelloberfläche.
2. Aus Zellen freigesetzter uPA bindet an uPAR und initiiert die Komplexbildung aus uPA, uPAR und Integrin [uPA-uPAR-Integrin]. uPAR bindet ebenfalls an Vitronektin und verstärkt die Adhäsion.
3. Die Bindung von PAI-1 an den Komplex bewirkt die Loslösung der Zelle von Vitronektin und außerdem die Bindung des Komplexes an LRP.
4. LRP-vermittelte Endozytose
5. Ablösung von [uPA-PAI-1] vom Gesamtkomplex und
6. Transport zum lysosomalen Abbau.
7. Dissoziation von uPAR, Integrin, LRP und
8. Rücktransport an die Zelloberfläche.

Abb. 4: Mechanismen der PAI-1-vermittelten Zellablösung von Matrixproteinen (Dutta 2007 modifiziert nach Czekay et al. 2003)

PAI-1 reguliert den Abbau der EZM durch Bindung an aktiven freien oder rezeptorgebundenen uPA und verhindert möglicherweise durch seine hohe Affinität für Vitronektin auch dessen Abbau. Dadurch entsteht eine vitronektinreiche Stroma als optimales Gerüst für die Zellmigration. Außerdem fördert PAI-1 die Angiogenese (Bajou et al. 2001, Isogai et al. 2001). Der Gewebe-Typ-Plasminogen-Aktivator (tPA) ist primär thrombolytisch aktiv und kann intravasale Emboli auflösen. Da PAI-1 auch tPA inhibiert, ist bei hoher PAI-1-Expression eine Beschleunigung der Metastasierung denkbar. Denn durch den reduzierten Abbau von Tumorzellmikroemboli in Gefäßkapillaren könnten konservierte maligne Zellen zu Tochtergeschwülsten proliferieren (Tsuchiya et al. 1997).

Erhöhte Werte von PAI-1 wurde neben dem Mammakarzinom bereits bei zahlreichen anderen Tumorarten nachgewiesen, unter anderem Lungenkarzinome, Kolonkarzinome, Hautkrebs, Magenkarzinome, Ovarialkarzinomen oder Hirntumore (Pappot et al. 1995, Schmitt et al. 2010).

Prognostische Relevanz:

Eine prognostische Relevanz wurde erstmals von Jänicke et al. (1991) nachgewiesen. Sie fanden bei Patientinnen mit primärem Mammakarzinom eine signifikante Korrelation zwischen dem PAI-1-Gehalt des Karzinomgewebes mit der Länge des krankheitsfreien Intervalls und auch mit der Gesamtüberlebenszeit. Ihre Ergebnisse wurden durch zahlreiche weitere Untersuchungen bestätigt (Borstnar et al. 2002a, 2002b, Bouchet et al. 1994, 1999, Candia et al. 2006, Castelló et al. 2002, Cufer et al. 2002, 2003, Eppenberger et al. 1998, Fersis et al. 1996, Foekens et al. 1994, Hansen et al. 2003, Harbeck 1998, 1999a, 1999b, 2000, 2001, 2002a, Jänicke et al. 1993, 1994, Kim et al. 1998, Knoop et al. 1998, Look et al. 2002, 2003, Luqmani et al. 2002, Manders et al. 2004a, 2004b, Mayerhofer et al. 1996, Palmirotta et al. 2009, Pedersen et al. 2000, 2003, Schmitt et al. 1997b, Schrohl et al. 2004, Thomssen et al. 1998, Umeda et al. 1997, Witzel et al. 2010). Erhöhte Werte von uPA, PAI-1 und uPAR im Tumorgewebe sind mit schlechtem Krankheitsverlauf und hohem Tumor-Grading assoziiert und führen zur Streuung von Tumorzellen und Fernmetastasierung (Schmitt et al. 1997a, Reuning et al. 1998). Allerdings ist die Anreicherung mit einem uPA:PAI-Komplex mit einem weniger aggressiven besser differenzierten Tumortyp verbunden (Alvarez-Milán et al. 2002).

In einer multivariaten prospektiven Analyse von 3424 primären Mammakarzinomen wurde zudem gezeigt, dass uPA und PAI-1 nicht nur eine klinisch relevante prognostische, sondern

auch prädiktiven Einfluss haben (Harbeck et al. 2002b). Gleichzeitig wurde gezeigt, dass nodal-negative Brustkrebs-Patientinnen mit unauffälligen uPA- und PAI-1-Werten keiner Chemotherapie bedürfen. In einer größeren Studie an 8377 Brustkrebs-Patientinnen wurden vergleichbare Ergebnisse erzielt. Erhöhte Werte von uPA oder PAI-1 waren abgesehen vom Lymphknotenstatus der stärkste Prädiktor für ein kurzes krankheitsfreies Überleben und niedriges Gesamtüberleben (Look et al. 2002).

Eine hohe Menge an PAI-1 mRNA, nicht aber uPA mRNA, wurde ebenso als wichtiger und unabhängiger prognostischer Faktor für die Entwicklung einer Fernmetastasierung und das Überleben bei nodal-positiven, hormonrezeptor-positiven Brustkrebspatientinnen entdeckt (Leissner et al. 2006). Nach einer neueren Studie war das Überleben von Patientinnen mit primärem Mammakarzinom ebenso von der Menge an PAI-1 mRNA abhängig, nicht aber von der uPA mRNA (Witzel et al. 2010).

1.3.4.5 Plasminogen-Aktvator-Inhibitor-Typ-2 (PAI-2)

Vorkommen und physiologische Funktionen:

PAI-2 zählt zu den Serpinen (Serinproteasehemmer). Im Gegensatz zu anderen Serpinen sind beide PAI-2 Formen unempfindlich gegen eine oxidative Inaktivierung. PAI-2 ist ein effizienter Hemmer von aktivem uPA, der SDS-stabile 1:1-Komplexe mit uPA bildet (Kruithof et al. 1995). An der Zelloberfläche gebundenes uPA ist zugänglich und durch exogenes PAI-2 hemmbar (Hang et al. 1998, Kruithof et al. 1995). Nach einer Reihe von Studien könnte PAI-2 das Potenzial haben, die Einwanderung von Krebszellen und die Metastase zu hemmen (Kruithof et al. 1995). Möglicherweise stellt PAI-2 eine neue Therapieoption für Tumormetastasen dar (Ranson et al. 2002).

Aufbau:

PAI-2 kommt in Form eines 47 kDa schweren intrazellulären Proteins und als glykosyliertes, extrazelluläres, 60 kDa schweres Glycoprotein vor. Es wird von Phagozyten und in Tumorzellen produziert. PAI-2 ist im Vergleich zu PAI-1 deutlich stabiler und bindet uPA ebenfalls überwiegend in Form eines 1:1 Inhibitor-Protease-Komplexes (Andreasen et al. 1990).

Prognostische Relevanz:

Für PAI-2 als Prognosefaktor liegen unterschiedliche Ergebnisse vor:

Nach Bortnar et al. (2002a, 2002b), Bouchet et al. (1994), Duggan et al. (1997) und Umeda et al. (1997) korreliert PAI-2 invers mit einer besseren Prognose. In anderen Studien wurde eine grenzwertige Signifikanz (Cufer et al. 2003) oder kein signifikanter Zusammenhang gefunden (Bouchet et al. 1999, Foekens et al. 1995, 2000). Schließlich fanden Spyrtos et al. (2002), dass niedrige und sehr hohe PAI-2 mRNA-Werte mit einem höheren krankheitsfreien Überleben verbunden waren.

2 Ziel der Untersuchung

Von den Patientinnen mit nodal-negativen Mammakarzinom können 70 % durch eine lokoregionale operative Therapie geheilt werden während ca. 30 % der Patientinnen Metastasen entwickeln. Um bei den gefährdeten 30 % der Patientinnen einen Überlebensvorteil zu erreichen, müssten alle nodal-negativen Patientinnen therapiert werden, verbunden mit belastenden Nebenwirkungen. Um eine Belastung der Patientinnen, die keiner systemischen adjuvanten Therapie bedürfen, zu vermeiden, wären aussagekräftige, prognostische Faktoren notwendig. Bis heute ist es nicht möglich, die gefährdeten 30 % Patientinnen sicher zu identifizieren (Harbeck und Thomssen 2011, Kantelhardt et al. 2011).

Der Gebrauch von traditionellen prognostischen Faktoren, wie zum Beispiel Alter, Menopausenstatus, Tumorgöße, Tumorgrading, und Steroidhormonrezeptorstatus, ist völlig unzureichend. Um eine Verfeinerung der Risikoabschätzung und eine individualisierte Behandlungsmöglichkeit zu ermöglichen, wurde in den letzten Jahren nach neuen prognostischen Faktoren gesucht. Während mehrere Studien uPA und PAI-1 als unabhängige Prognosefaktoren evaluiert haben, ist die Bedeutung des PAI-2 noch widersprüchlich.

In dieser Studie wurde die Wertigkeit dieser Protease als prognostische und prädiktive Faktoren für Patientinnen mit nodal-negativen Mammakarzinom untersucht, wobei vor allem die Bedeutung von PAI-2 genauer analysiert werden sollte.

Im Einzelnen wurde folgenden Fragen nachgegangen:

1. Haben die Tumorproteasen uPA, PAI-1 und PAI-2 eine prognostische Aussagekraft für die Entstehung von Metastasen?
2. Besteht eine Korrelation zwischen uPA, PAI-1 und PAI-2?
3. Besteht eine Korrelation zwischen uPA, PAI-1 und PAI-2 mit den etablierten prädiktiven Faktoren Tumorgöße, Grading, histologischer Typ, Steroidhormonrezeptorstatus, Alter und Menopausenstatus?

Die eigenen Ergebnisse werden mit Resultaten anderer Arbeitsgruppen in der internationalen Literatur verglichen und diskutiert.

3 Patientinnen und Methoden

3.1 Patientinnen

Eingang in die vorliegende retrospektive Studie fanden die Daten von 205 Patientinnen mit primären nodal-negativen Mammakarzinom. Die Patientinnen wurden im Zeitraum von 2002 bis 2008 in der Augusta-Krankenanstalt Bochum GmbH behandelt.

3.2 Erfasste Daten

Folgende Parameter wurden aus den archivierten Krankenakten der Patientinnen erfasst: Lebensalter und Menopausenstatus, Tumorgroße, Grading, Tumorstadium, histologischer Typ, Steroidhormonrezeptorstatus (Östrogen-Score und Progesteron-Score), Her-2-neu und die Proteasen uPA, PAI-1 und PAI-2. Darüber hinaus wurde die Therapie erfasst (adjuvante Chemotherapie, adjuvante endokrine Therapie, Antikörpertherapie mit Trastuzumab, Radiotherapie). Erfassung des aktuellen Status erfolgte über die Haus,-und Frauenärzte.

3.3 Nachweis von uPA, PAI-1 und PAI-2 durch einen ELISA im Tumorgewebe der intraoperativ gewonnenen Proben

Die Untersuchungen wurden von Frau Ilka Streckert durchgeführt und in ihrer Dissertation beschrieben (Streckert 2009):

3.3.1 Gewinnung und Aufbewahrung

Die Proben wurden intraoperativ gewonnen, wobei die Operation mehr als 5 Tage nach der Diagnosestellung durch sonographischer Jetbiopsie durchgeführt wurde. Das entnommene Material wurde sofort auf Eis gelagert. Nach der Diagnostik durch die Pathologie wurde ein ca. 50 mg großes Stück Tumorgewebe mit möglichst geringem Fettgewebsanteil entnommen, bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren und bis zu den uPA-, PAI-1- und PAI-2-Bestimmung unfixiert und gefroren gelagert. Der Transport ins Labor erfolgte auf Trockeneis (Streckert 2009).

3.3.2 Bestimmung der uPA, PAI-1 und PAI-2-Gewebekonzentration

Die Bestimmung der uPA und PAI-1-Gewebekonzentrationen wurde mit dem FEMTELLE[®] Prognose Test von American Diagnostica vorgenommen. Der Test basiert auf einem gegen humanes uPA bzw. humanes PAI-1 gerichteten, hoch spezifischen monoklonalen Maus Fängerantikörper. Die Bestimmung von PAI-2 erfolgte mit IMUBIND[®] PAI-2 ELISA von American Diagnostica.

Der ELISA war zweifach standardisiert und zwar über die Eichgrade und auch über die Normierung pro Gramm Tumorgewebe durch den Proteinassay standardisiert.

Die Bearbeitung des Probenmaterials geschah an drei aufeinanderfolgenden Tagen. Am ersten Tag erfolgte die Cytosolherstellung mit anschließender Inkubation über Nacht, am zweiten Tag wurden die Testplatten für den Proteinassay belegt und der uPA-, PAI-1 und PAI-2-ELISA angesetzt. Am dritten Tag wurden der BCA-Protein-Assay ausgewertet und die ELISA-Tests durchgeführt. Anschließend wurden die uPA-, PAI-1- und PAI-2-Konzentrationen im Gesamtgewebe berechnet (Streckert 2009).

3.3.2.1 Tumoraufbereitung und Cytosolherstellung

Die Tumorproben wurden aus dem Kühlschrank entnommen. Davon wurden 200 mg Gewebe abgewogen und mit dem Skalpell zerkleinert. Das Gewebe wurde in vorgekühlten Teflongefäßen mit Wolframkugeln in flüssigem Stickstoff gekühlt und im Dismembrator für 30 s bei 2000 U/min dismembraniert.

Das Gewebepulver wurde in Sarstedtgefäßen mit Vorlage von 600 µl TBS-Gebrauchslösung gelöst, danach wurden die Zellen durch Zugabe von 67 µl 10 % Tritron X-100-Lösung lysiert.

Die Gewebesuspension wurde für 14-16 Stunden bei 4 °C auf dem Rollenmischer gerührt.

Darauf folgte die Zentrifugation der Cytosole für 45 min mit 14.000 U/min bei 4 °C. Die Lipidschicht wurde, wenn nötig, entfernt und aus der klaren Cytosolschicht wurden aliquote Anteile für die Analysen entnommen (Streckert 2009).

3.3.2.2 Proteinbestimmung

Die Proteinbestimmung wurde mit dem BCA-Proteintest von Pierce (Pleite BCA Protein Assay Kit) durchgeführt, da dieser nicht durch die Detergenzien des FEMTELLE®-Testes gestört wird.

Zunächst wurde der BCA-Verdünnungspuffer hergestellt, danach wurden nach Schema mit Waschpuffer die Proteinstandards im Probenröhrchen angesetzt. Darauf wurde die Farblösung für den BCA-Assay angesetzt.

Entsprechend dem Pipettierplan wurden 50 µl Proteinprobe pro Well in eine Mikrotiterplatte gegeben, 200 µl Farblösung pro Well wurden hinzugefügt. Die Platte wurde mit Folie abgedeckt und über Nacht bei Raumtemperatur inkubiert.

Der Farbumschlag nach Hellblau wurde im ELISA-Reader bei 550 nm ausgewertet. Schließlich wurden die Werte ins Excelprogramm importiert und die Auswertung wurde kontrolliert (Streckert 2009).

3.3.2.3 Durchführung des uPA-/PAI-1-ELISAs

Zuerst wurden die uPA-, PAI-1- und PAI-2-Standards, der Waschpuffer und der Probenpuffer hergestellt. Für die Bestimmungen wurden 1:20 und für hohe Aktivität 1:40 Verdünnungen hergestellt. Der Belegplan der Mikrotiterplatten wurde vorbereitet. Auf Eis wurden je 100 µl Standard in die Wells pipettiert, danach wurden je 100 µl Probenmaterial zugefügt. Die Wells wurden mit Folie abgedeckt und über Nacht bei 4 °C im Kühlschrank inkubiert.

Am folgenden Tag wurden die Detektionsantikörper hergestellt und die H₂SO₄-Lösung (Stopplösung) bereitgehalten. Die Wells wurden viermal gewaschen, und anschließend wurden je 100 µl uPA Detektionsantikörper in die uPA-Wells, je 100 µl PAI-1 in die PAI-1-Wells sowie je 100 µl PAI-2-Detektionsantikörper in die PAI-2-Wells gegeben. Die Platten wurden mit Folie abgedeckt und eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Während der Inkubation wurde der Enzymkonjugatverdünner zubereitet und damit wurden die uPA-, PAI-1- und PAI-2-Enzymkonjugate hergestellt. Nach der Inkubation wurden die Wells wieder viermal gewaschen und 100 µl uPA-, PAI-1- oder PAI-2-Enzymkonjugat in die entsprechenden Wells pipettiert. Die Wells wurden noch einmal für eine Stunde gut abgedeckt, bei Raumtemperatur inkubiert und wieder viermal gewaschen. Danach wurden 100 µl TMB-Substratlösung in die Wells gefüllt und 20 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert (blaue Farbentwicklung). Nach 20 Minuten wurde die Reaktion durch Zugabe von 50 µl Stopplösung

beendet (Farbumschlag nach Gelb). Die Messung wurde innerhalb von 15 min bei 450 nm (Referenzwert 620 nm) durchgeführt. Die Werte wurden ins Excelprogramm importiert und die Auswertung wurde kontrolliert (Streckert 2009).

3.3.2.4 Auswertung

Die Auswertung erfolgte durch das Excelprogramm uPA-PAI-Assay. Zuerst wurde die BCA-Eichkurve aus den Mittelwerten der jeweiligen Doppelbestimmung berechnet. Hieraus wurde die Trendlinie $y = mx + b$ (m : Steigung; b : x-Achsenabschnitt) mit $y = \text{Absorption}$ und $x = \text{Konzentration}$ bestimmt. Die Bestimmung der Konzentration der verdünnten Patientinnenproben ergab sich aus der Trendlinie nach $x = (y - b) / m$. Anschließend wurde mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert und die Werte wurden von $\mu\text{g/ml}$ in mg/ml umgerechnet. Das Programm gab als Zwischenergebnisse die Proteinkonzentration der Patientinnenproben in mg/ml aus. Zur Kontrolle dienten die BCA-Eichkurve und die Regressionsparameter.

Nach Eingabe der uPA-, PAI-1- und PAI-2-Messwerte und des Verdünnungsfaktors der Patientinnenproben wurden die Eichkurven aus den jeweiligen Standards berechnet. Hieraus wurde wieder die Trendlinie $y = mx + b$ mit $y = \text{Absorption}$ und $x = \text{Konzentration}$ bestimmt. Die Bestimmung der Konzentration der verdünnten Patientinnenproben erfolgte aus der Trendlinie nach $x = (y - b) / m$ und Multiplikation mit dem Verdünnungsfaktor der Proben (uPA-/PAI-1-Werte in ng/ml). Die Werte [ng/ml] wurden durch den Proteingehalt der Proben [mg/ml] aus dem Datenblatt der BCA-Auswertung dividiert. Es erfolgte die Ausgabe der uPA-, PAI-1- und PAI-2-Werte in ng/mg Gewebe. Zur Kontrolle dienten die jeweiligen Eichkurven sowie die Regressionsparameter (Streckert 2009).

3.3.2.5 Cut-off-Werte

In einer größeren multizentrisch prospektiv randomisierten Therapiestudie „Chemo-N0“ wurde gezeigt, dass zur Unterscheidung zwischen guter und schlechter Prognose der Cut-Off-Wert für uPA mit $3 \text{ ng}/\mu\text{g}$ Protein und der Cut-Off-Wert für PAI-1 bei $14 \text{ ng}/\mu\text{g}$ Protein im Tumorzytosol festzulegen ist (Jänicke et al. 2001).

3.4 Statistik

Die Erfassung der Daten erfolgte mit dem Programm Excel 2000 (Microsoft). Die statistische Auswertung wurde mit dem Programm SPSS Version 14 vorgenommen.

Es erfolgte eine deskriptive Auswertung der Variablen mit der Ermittlung von Mittelwert, Standardabweichung, Minimum, Maximum, Median, Häufigkeit (n) und Anteil (%).

In der univariaten Statistik wird nur eine unabhängige Variable betrachtet. Mit der Spearman-Rangkorrelation wurden die Variablen Alter, pT, Grading, uPA, PAI-1, PAI-2, Tumorgröße, Östrogen-Score, Progesteron-Score und Her-2-neu paarweise auf Korrelation untersucht. Voraussetzungen über die Verteilungsform bestehen nicht, die Variablen brauchen nur ordinalskaliert zu sein.

In der multivariaten Statistik werden mehrere Variablen gleichzeitig untersucht. Angewendet wurde die Regressionsanalyse. Deren Ziel liegt darin, Beziehungen zwischen einer abhängigen und mehreren unabhängigen Variablen festzustellen. Anfänglich befinden sich alle Variablen in der Regressionsgleichung. Das Programm ermittelt für jede Variable den p-Wert. Schrittweise wird die Variable mit dem höchsten p-Wert aus der Regressionsgleichung entfernt. Das Verfahren wird solange wiederholt, bis keine Variablen mehr entfernt werden können, die das Signifikanzniveau nicht erreicht haben ($p > 0,05$), also nur noch signifikante Variablen übrig bleiben ($p < 0,05$).

3.5 Verwendete Geräte und Reagenzien

3.5.1 Geräteliste

- Dismembrator: Mikro-Dismembrator S, Sartorius, Göttingen
- Mixer, Uzusio VTX-3000L, LMS, Japan
- Kühlzentrifuge, 5417 R, Eppendorf, Hamburg
- Laborwaage, 440-33N, KERN, Deutschland
- Rollenmischer, RM 5, Assistent, Sontheim
- Pipettensatz, Eppendorf, Hamburg
- Elisa-Photometer, Spectra Mini, Tecan, Crailsheim
- Kryobehälter, 18HC, Tavior-Wharton, USA
- Kryogefäße, Cryo-Tube, Nunc, Wiesbaden
- Mikrotiterplatten, Sarstedt, Nümbrecht

3.5.2 Chemikalienliste

- uPA/PAI-1 Test, FEMTELLE, Best.-Nr.: 899, American Diagnostica inc., Pfungstadt
- IMUBIND[®] PAI-2 ELISA, Best.-Nr.: 894, American Diagnostica inc., Pfungstadt
- BCA Protein Assay Kit, Prod.-Nr.: 23225, Thermo Scientific, Bonn
- Albumin Standard, Prod.-Nr: 23209, Thermo Scientific, Bonn
- Protein Standard, Precinorm, Prod.-Nr.: 10557897, Roche Diagnostics, Mannheim
- uPA/PAI-1-Qualitätskontrollproben, Radbound Universität, Nijmegen, NL
- Bovines Serumalbumin (BSA), Best.-Nr.: A7030, Signa, Taufkirchen
- Schwefelsäure, Best.-Nr.: 84718, Sigma (Fluka), Taufkirchen

4 Ergebnisse

4.1 Alter und Menopausenstatus der Patientinnen

Das Patientenkollektiv setzt sich aus 205 Frauen im Alter von 36 - 88 Jahren zusammen (Tab. 3).

Tab. 3: Alter der Patienten

	Alter [Jahre]
Mittelwert, Standardabweichung [Jahre]	63,4±10,4
Minimum - Maximum [Jahre]	36-88
Median [Jahre]	65,2

Die meisten Patientinnen waren zwischen 50 und 80 Jahre alt (Abb. 5).

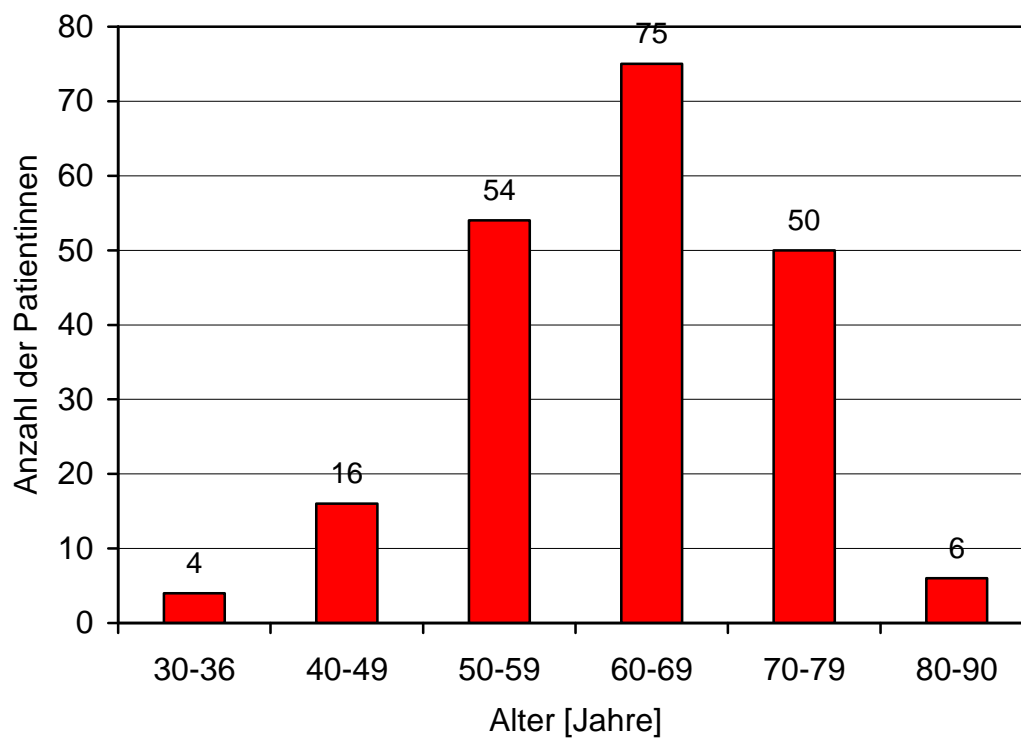


Abb. 5: Altersverteilung der Patientinnen

Fast alle Frauen (96 %) waren postmenopausal. Nur ein kleiner Teil war perimenopausal (3 %) oder prämenopausal (1 %).

4.2 Rezidive und Metastasen

Ob ein Rezidiv vorlag, konnte bei 177 Patientinnen und der Metastasenstatus bei 175 Patientinnen geklärt werden. Nur bei einer Patientin wurde ein Reziv der Thoraxwand R1 G2 festgestellt. Bei dieser Patientin lag zugleich eine ossäre Metastase der BWS und LWS vor. Pulmonal kleinste Herde fanden sich bei einer weiteren Patientin. Eine ossäre Metastase der LWS war bei einer Patientin fraglich.

4.3 Tumorproteasen

Der größte Teil der uPa-Werte bewegte sich im Bereich von 0-4 ng/mg. Mit höheren uPa-Werten nahm der Anteil der Patientinnen ab (Abb. 6).

Der größte Teil der PAI-1-Werte lag im Bereich von 0-20 ng/mg. Mit höheren PAI-1-Werten nahm der Anteil der Patientinnen ab (Abb. 7).

Der meisten PAI-2-Werte (80 %) waren 0 ng/mg. 16 % der PAI-2-Werte war – 10 ng/mg und nur 4 % der Werte lagen darüber (Abb. 8).

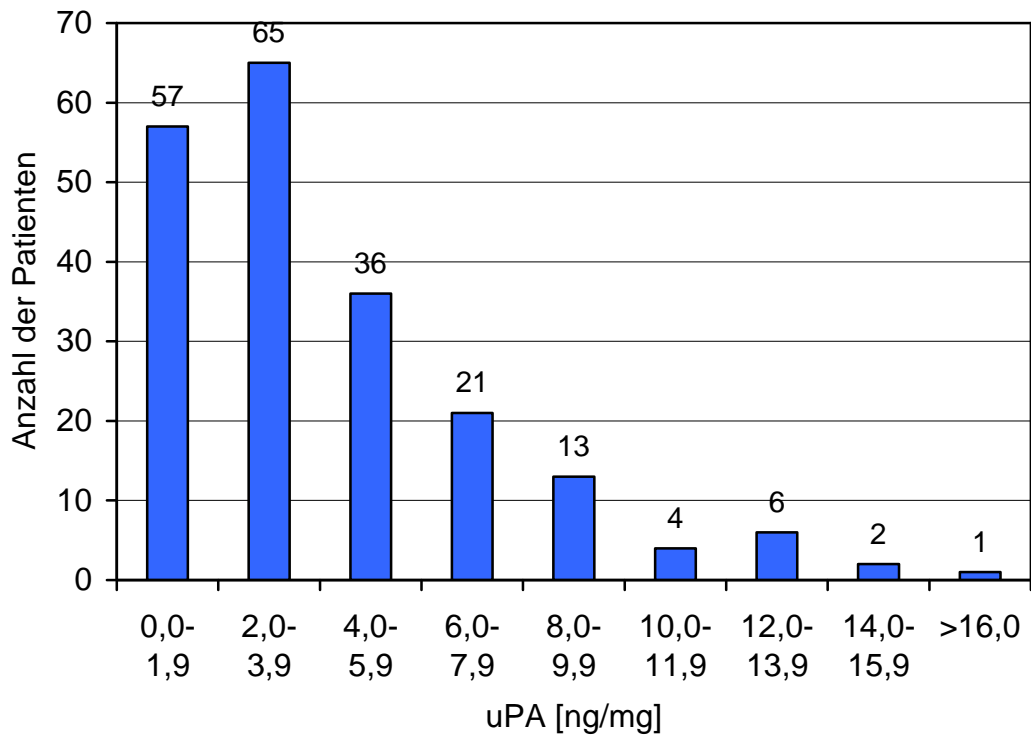


Abb. 6: Verteilung der uPa-Werte

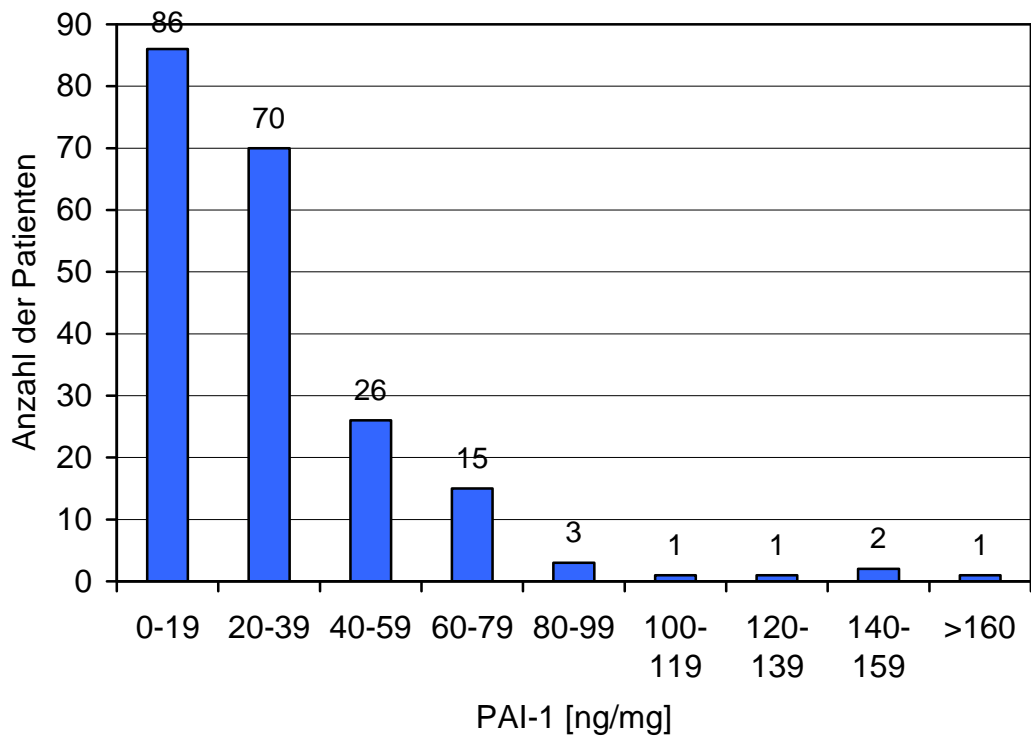


Abb. 7: Verteilung der PAI-1-Werte

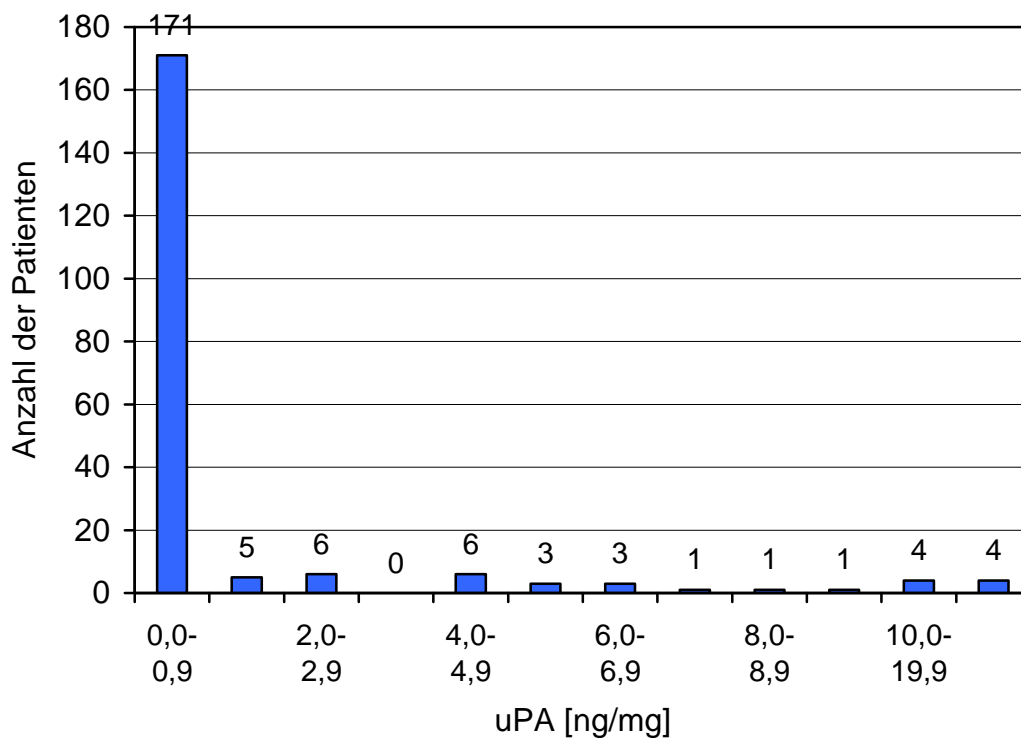


Abb. 8: Verteilung der PAI-2-Werte

Alle Tumorproteasen, uPa, PAI-1 und PAI-1, streuen in einem sehr weiten Bereich. Dabei sind die Werte der Einzelfälle mit Rezidiven und/oder Metastasen im Rahmen des gesamten Kollektivs, die Werte sind also absolut unauffällig (Tab. 4).

Tab. 4: Tumorproteasen

		uPA [ng/mg]	PAI-1 [ng/mg]	PAI-2 [ng/mg]
Gesamtes Kollektiv	Mittelwert	4,26	30,6	1,76
	Standardabweichung	3,75	29,3	6,88
	Minimum	0	0	0
	Maximum	33,3	270,2	54,4
	Median	3,2	22,7	0
Einzelfälle mit Rezidiven und/oder Metastasen	Reziv Thoraxwand & ossäre Metastase	7,9	38,4	0
	Pulmonal kleinste Herde	1,9	20	0
	fragliche ossäre Metastase der LWS	0,5	9,4	0

4.4 Tumorgröße

Die meisten Tumore (78 %) waren 1-2 cm groß (Abb. 9).

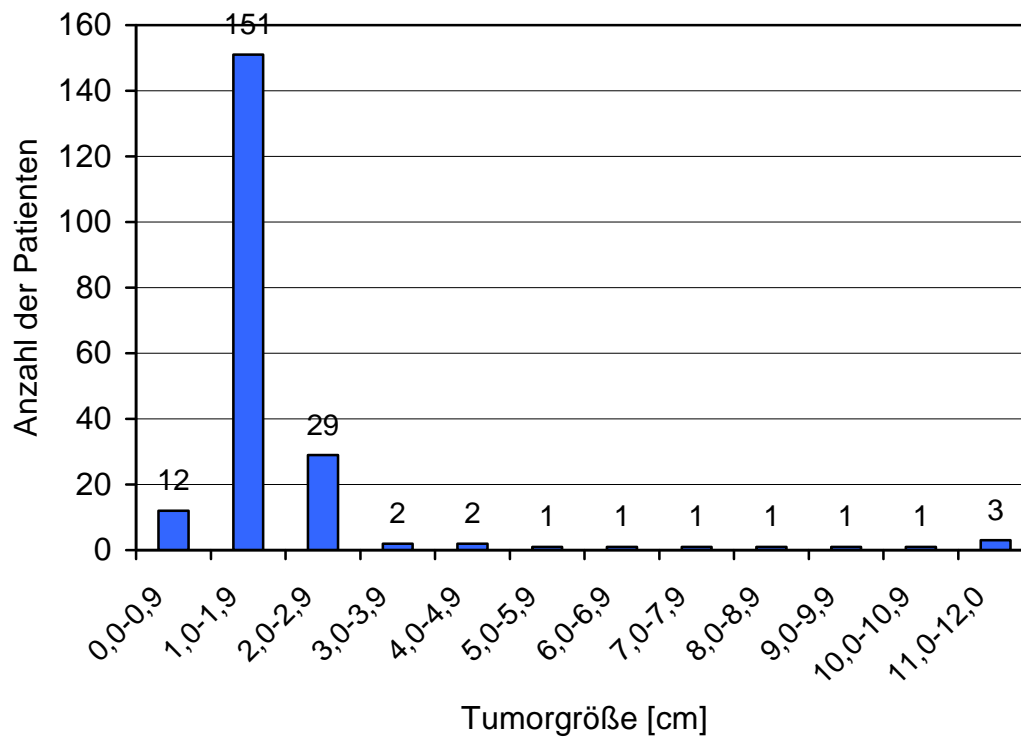


Abb. 9: Verteilung der Tumorgrößen

4.5 Grading, Tumorstadium und histologischer Typ

Die Mehrheit der Tumore (60,1 %) war vom Grad 2. Es folgten Grad 3 mit einem Anteil von 21,3 % und Grad 1 mit 18,7 % (Abb. 10).

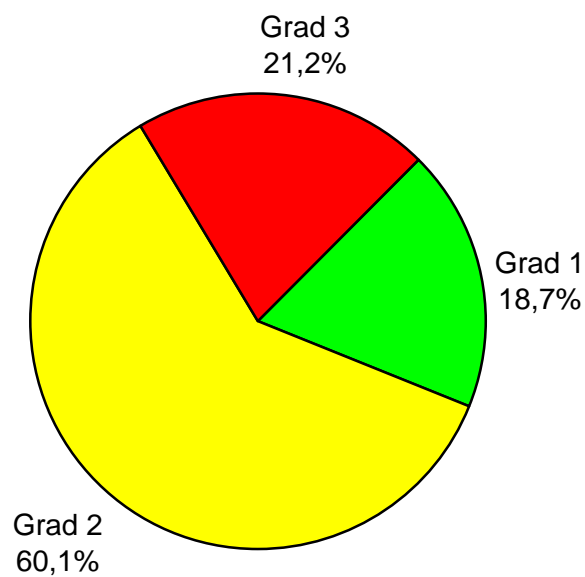


Abb. 10: Grading

Das Stadium 1c hatte mit 69,5 % weitaus den größten Anteil. Deutlich geringer war der Anteil von Stadium 1b mit 16,0 % und 2a mit 13,5 %. Die übrigen Stadien sind anteilmäßig zu vernachlässigen (Abb. 11).

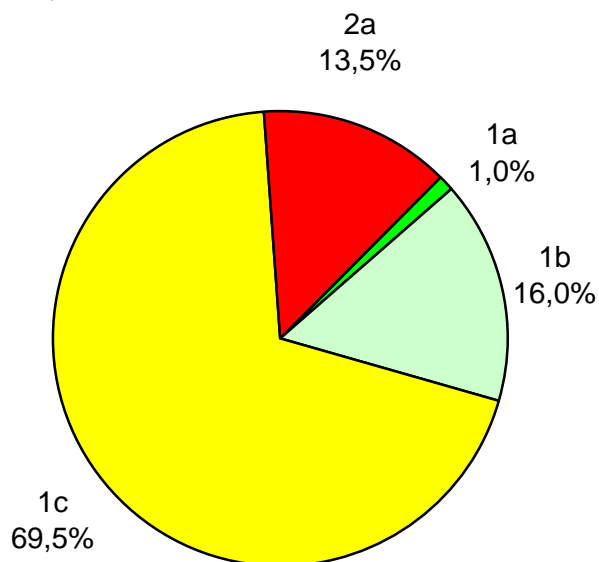


Abb. 11: Tumorstadium

Die meisten Tumore (95 %) wurden als invasiv duktal klassifiziert. Der Anteil der invasiv lobulären Tumore lag bei 5 %.

4.6 Steroidhormonrezeptorstatus

Der Östrogen-Score liegt im Mittel bei $7,4 \pm 4,2$ und der Progesteron-Score bei $4,8 \pm 4,5$. Beide streuen sehr stark, ohne dass ein Häufigkeitsgipfel auszumachen wäre (Abb. 12).

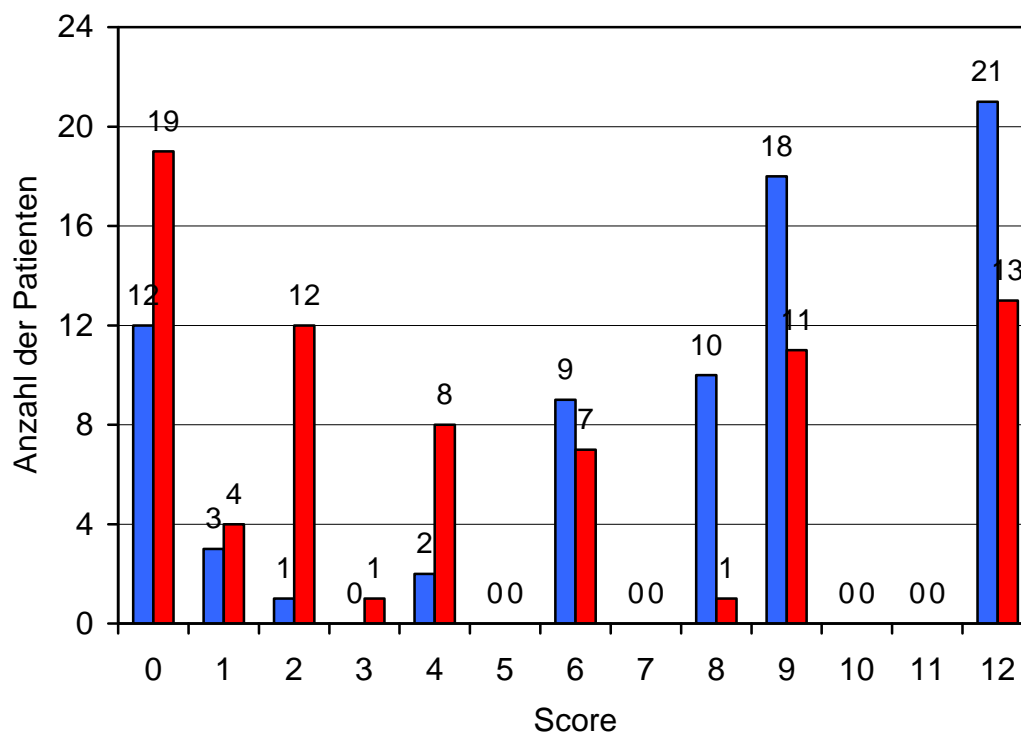


Abb. 12: Verteilung von Östrogen-Score und Progesteron-Score

4.7 Lymphgefäßeinbrüche

In 28 % der Fälle lagen Lymphgefäßeinbrüche vor.

4.8 Her-2-neu

Eine Überexpression von Her-2-neu war bei 70,7 % der Patientinnen nicht nachweisbar (Abb. 13).

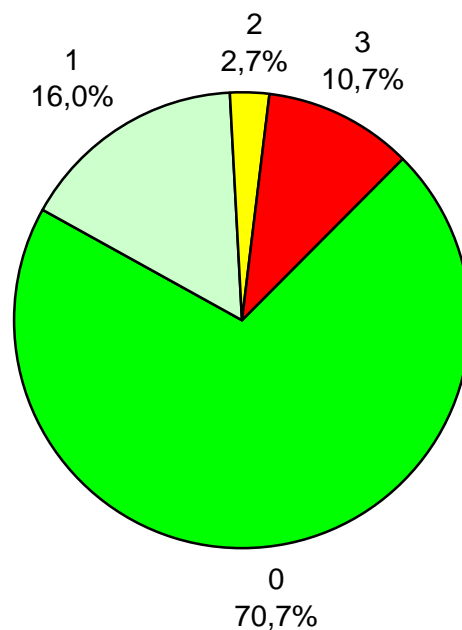


Abb. 13: Her-2-neu Überexpression

4.9 Korrelationen

In einer univariaten Analyse wurde paarweise untersucht, welche Variablen miteinander korrelieren (Tab. 5). Es bestand eine hochsignifikante positive Korrelation zwischen dem Tumorgrading mit dem Urokinase-Typ-Plasminogen-Aktivator (uPA), den Plasminogen Aktivator Inhibitor Typen 1 (PAI-1) und 2 (PAI-2) und der TumorgroÙe, eine signifikante Korrelation mit Her-2-neu und eine hochsignifikante negative Korrelation mit dem Steroidhormonrezeptorstatus von Östrogen-Score (ERscore) und Progesteron-Score (PRscore). UPA, PAI-1 und PAI-2 korrelierten alle untereinander (Abb. 14 bis Abb. 16). Auch Östrogen-Score und Progesteron-Score korrelierten miteinander. PAI-2 korrelierte hochsignifikant negativ mit dem Östrogen-Score und dem Progesteron-Score (Tab. 5).

Es ist aber auch festzuhalten, dass zwischen uPA, PAI-1 und PAI-2 und den weiteren etablierten prädiktiven Faktoren TumorgroÙe, Stadium und Alter kein signifikanter Zusammenhang bestand (Tab. 5).

Tab. 5: Korrelationen nach Spearman, angegeben ist der Korrelationskoeffizient r und die Signifikanz p

		Alter	pT	Grading	uPA [ng/mg]	PAI-1 [ng/mg]	PAI-2 [ng/mg]	Tumor- größe	ERscore	PRscore	Her-2-neu
Alter	r		-0,03781	-0,07143	-0,09245	-0,00926	-0,08268	-0,05169	0,04194	-0,00447	-0,23241
	p		0,29657	0,15557	0,09366	0,44756	0,11926	0,23083	0,3595	0,48469	0,02239
pT	r	-0,0378		0,25562	0,08178	0,02938	-0,04843	0,79533	-0,05605	0,05473	0,18722
	p	0,2966		<0,0001	0,12361	0,339	0,2468	<0,0001	0,31762	0,3216	0,05635
Grading	r	-0,07143	0,25562		0,43732	0,33297	0,2312	0,32834	-0,37094	-0,33913	0,19507
	p	0,15557	<0,0001		<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,00189	0,000486	0,00136	0,04675
uPA [ng/mg]	r	-0,09245	0,08178	0,43732		0,66504	0,17835	0,03477	0,03844	0,01198	0,15195
	p	0,09366	0,12361	<0,0001		<0,0001	0,00525	0,31031	0,37079	0,45909	0,09655
PAI-1 [ng/mg]	r	-0,00926	0,02938	0,33297	0,66504		0,15968	0,02892	-0,11232	-0,03868	-0,03392
	p	0,44756	0,339	<0,0001	<0,0001		0,01109	0,34029	0,16701	0,37001	0,38629
PAI-2 [ng/mg]	r	-0,08268	-0,04843	0,2312	0,17835	0,15968		-0,06726	-0,35329	-0,28426	0,14791
	p	0,11926	0,2468	0,000452	0,00525	0,01109		0,16897	0,0008724	0,00641	0,10268
Tumor- größe	r	-0,05169	0,79533	0,32834	0,03477	0,02892	-0,06726		-0,04009	-0,11249	0,09876
	p	0,23083	<0,0001	0,00189	0,31031	0,34029	0,16897		0,36636	0,1683	0,20124
ERscore	r	0,04194	-0,05605	-0,37094	0,03844	-0,11232	-0,35329	-0,04009		0,56978	-0,19888
	p	0,3595	0,31762	0,000486	0,37079	0,16701	0,000872	0,36636		<0,0001	0,04357
PRscore	r	-0,00447	0,05473	-0,33913	0,01198	-0,03868	-0,28426	-0,11249	0,56978		-0,13487
	p	0,48469	0,3216	0,00136	0,45909	0,37001	0,00641	0,1683	<0,0001		0,1243
Her-2- neu	r	-0,23241	0,18722	0,19507	0,15195	-0,03392	0,14791	0,09876	-0,19888	-0,13487	
	p	0,02239	0,05635	0,04675	0,09655	0,38629	0,10268	0,20124	0,04357	0,1243	

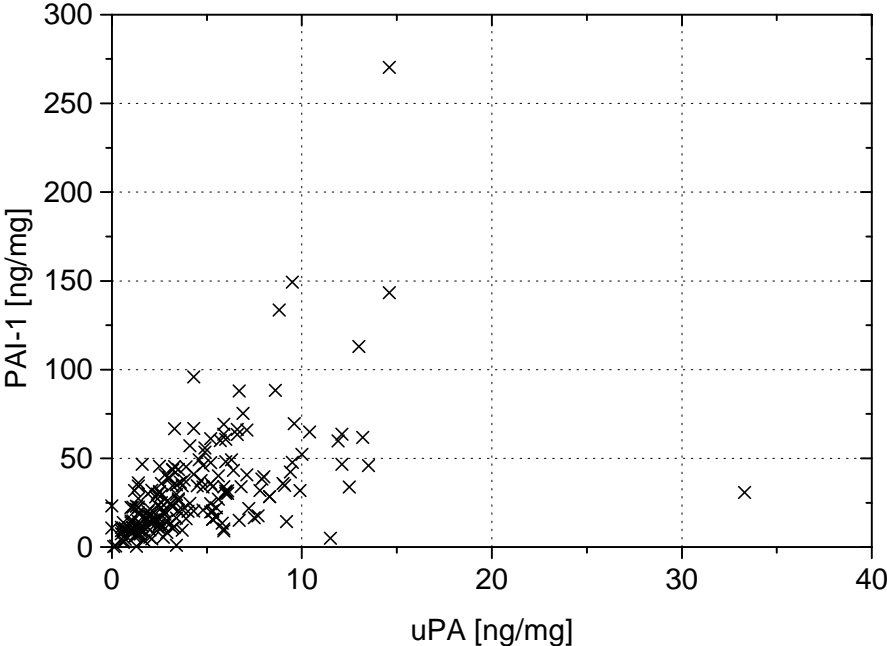


Abb. 14: Korrelation zwischen uPa und PAI-1

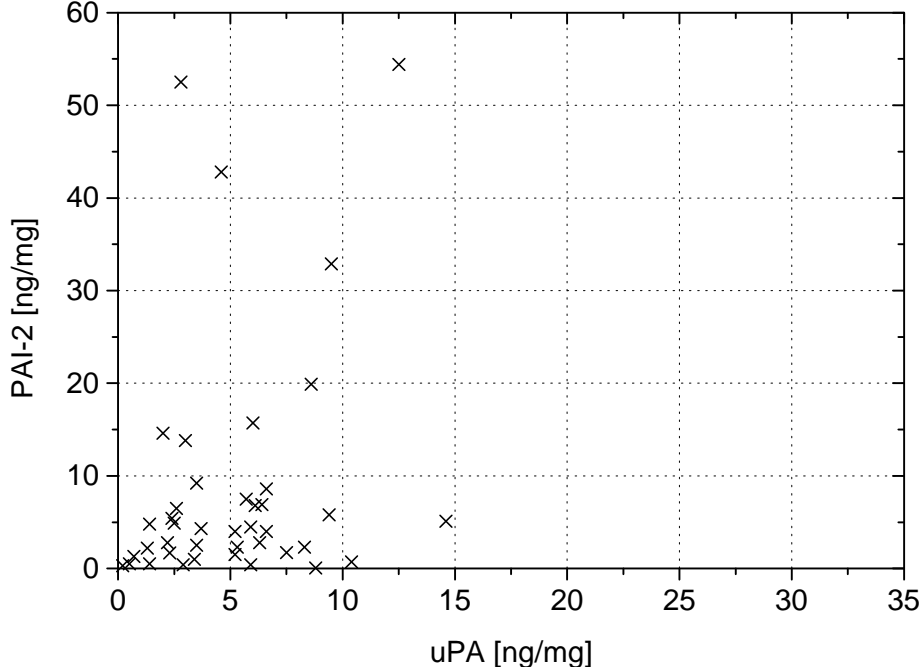
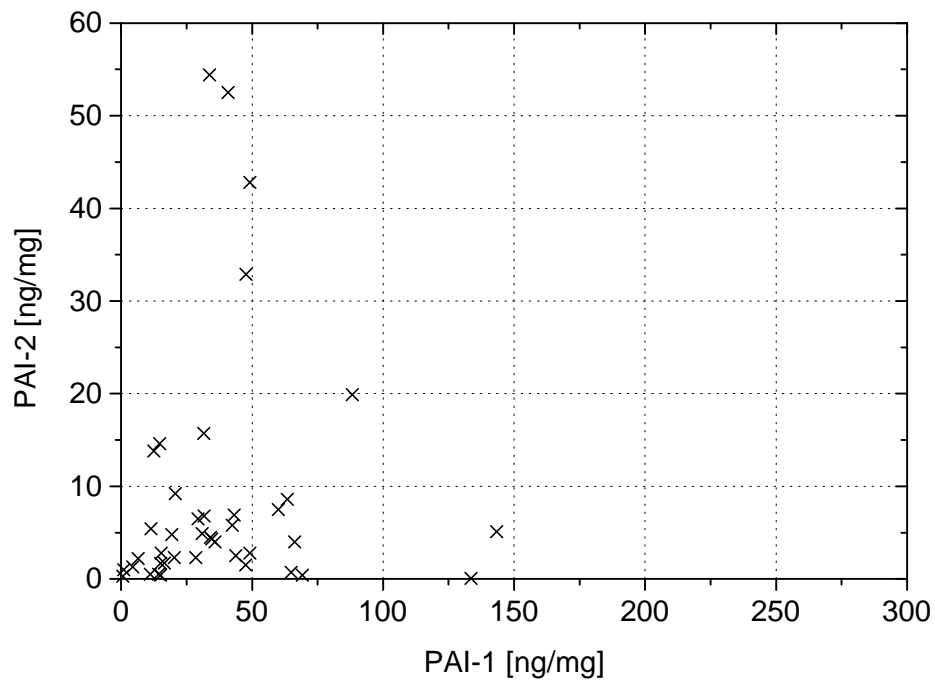


Abb. 15: Korrelation zwischen uPa und PAI-2



4.10 Behandlung

Eine adjuvante Chemotherapie wurde bei insgesamt 32,5 % der Patientinnen durchgeführt. In den meisten Fällen handelte es sich um ein Therapie mit 6 Zyklen FEC. Den Antikörper Trastuzumab erhielten nur 4,8 % der Patientinnen bei positiven Her 2 Status. Die meisten Patientinnen (87,0 %) erhielten eine Radatio (Tab. 6).

Tab. 6: Behandlung

		Anzahl [n]	Anteil [%]
Chemo- therapie	6xFEC	20	26,0
	CMF	2	2,6
	Anthracyclin	1	1,3
	4xEC	2	2,6
Herceptin		2	4,8
PCT		25	32,5
Radiatio		67	87,0

5 Diskussion

5.1 Bedeutung der Prognosefaktoren

Für die Erstellung eines individuellen Therapiekonzeptes für eine Patientin mit primärem Mammakarzinom sind genaue prognostische und prädiktive Informationen wichtig. Daher wurde in der vorliegenden Studie untersucht, ob es mit den tumorbiologischen Faktoren uPA, PAI-1 und PAI-2 möglich ist, nodal-negative Patientinnen mit einem erhöhten Rezidivrisiko herauszufiltern. Damit ließen sich die Chancen für ein Ansprechen auf bestimmte adjuvante Therapieschemata abschätzen. Patientinnen mit guter Prognose können einerseits die Nebenwirkungen und Spätfolgen der adjuvanten Chemotherapie erspart werden, welche die Lebensqualität stark einschränken. Andererseits benötigen Patientinnen mit hohem Risiko eine adjuvante Chemotherapie. Patientinnen mit hohen uPA/PAI-1 Werten sprechen zwar gut auf eine Chemotherapie an (Harbeck et al. 2002b), aber weniger gut auf eine palliative endokrine Therapie (Meijer-van Gelder et al. 2004). Zudem stellen diese Faktoren Angriffsziele für neue Behandlungsansätze dar (Schmitt et al. 2000, 2010).

5.2 Bestimmung der Tumorproteasen

Nach der vorliegenden Studie lagen die uPa-Werte im Mittel bei $4,23 \pm 3,75$ ng/mg und im Median bei 3,2 ng/mg. Die Literaturangaben weichen sehr stark voneinander ab (Tab. 7). So reichen die Angaben für nodal-negative Patientinnen von im Mittel $0,16 \pm 0,13$ ng/mg (Rha et al. 2000) bzw. Median $0,16 \pm 0,13$ ng/mg (Malmström et al. 2001) bis im Median 5,32 ng/mg (Cufer et al. 2003).

Die extrem starken Abweichungen der Ergebnisse in den verschiedenen Studien begründen sich in erster Linie auf unterschiedliche Versuchsprotokolle, so (a) die Art des Tumorextraks, der für die Untersuchung verwendet wurde, wie z. B. ob ganzes Homogenat, niedrige Geschwindigkeits- oder Hochgeschwindigkeitsüberstand verwendet wurde; (b) ob ein Detergens wie Triton X-100 zur Extraktion der Protease verwendet wurde, (c) verwendete Kalibratoren und (d) Spezifität der verwendeten Antikörper bei den verschiedenen ELISA's (Duffy et al. 1998, Fersis et al. 1996).

Tab. 7: Studien zur Bestimmung von Tumorproteasen bei Patientinnen mit Mammakarzinomen

Autoren	N	n		uPa [ng/mg]	PAI-1 [ng/mg]	PAI-2 [ng/mg]
Castelló et al. (2002)	N0	30	Mittelwert ±	2,12±0,26	3,32±0,54	
	N1	24	Std.abweich.	3,73±0,41	5,60±1,02	
Castelló et al. (2007)	N0	35	Mittelwert ±	2,26±0,20	3,05±0,40	
	N+	35	Std.abweich.	3,48±0,47	4,76±0,60	
Cufer et al. (2003)	N0	214	Median	5,32 (3,21-8,55)	10,04 (5,84-17,4)	8,01 (4,16-16,33)
	N+	239	(Bereich)	5,38 (2,71-8,04)	9,59 (5,10-15,28)	8,04 (3,68-17,75)
Descotes et al. (2008)	N0	329	Median	2,2	7,4	
	N+	263		2,6	7,75	
Eppenberger et al. (1998)	N0	152	Median	0,54 (0-3,1)	5,4 (0,1-44)	
	N+	123	(Bereich)	0,61 (0,06-7,9)	6,3 (0,7-27)	
Fersis et al. (1996)	N0	65	Median	2,58	7,89	
	N1-3	28		2,61	8,01	
	N>3	62		2,74	8,11	
Foekens et al. (2000)	N0	1405	Median	0,73 (0,24-1,43)	14,3 (7,8-23,4)	2,47 (1,39-5,01)
	N1-3	725	(Bereich)	0,76 (0,30-1,49)	15,3 (8,6-25,8)	2,47 (1,36-5,03)
	N>3	650		0,77 (0,31-1,57)	16,5 (9,2-27,0)	2,02 (1,12-3,71)
Jänicke et al. (1990)	N0	61	Median	3,07		
	N+	54		2,17		
Jänicke et al. (1993)	N0	104	Median	2,36	0,93	
	N+	135		2,45	1,13	
Kamer (2007)	N0	31	Median	1,38 (0,19-7,0)	10,1 (0,78-42,0)	
	N+	42	(Bereich)	1,52 (0,22-15,2)	10,8 (2,62-187,4)	
Malmström et al. (2001)	N0	237	Median (Bereich)	0,16 (0,02-3,0)	0,70 (0,01-23)	
Manders et al. (2004c)	N0	63	Median	0,58	1,98	
	N+	95		0,48	1,76	
Meo et al. (2004)	N0	196	Mittelwert ± Std.abweich. Median (Bereich)	0,60±0,53 0,46 (0,1-2,79)	10,1±10,1 7,06 (1,9-64,4)	
Rha et al. (2000)	N0	99	Mittelwert ±	0,16±0,13	0,22±0,18	
	N1	83	Std.abweich.	0,18±0,16	0,22±0,18	
	N2	10		0,11±0,09	0,15±0,11	
eigene Studie	N0	205	Mittelwert ±	4,23±3,75	30,6±29,3	1,76±6,88
			Std.abweich. Median (Bereich)	3,2 (0-33,3)	22,7 (0-270)	0 (0-54,4)

Die meisten uPa-Werte waren bis zu 4 ng/mg groß. Mit höheren uPa-Werten nahm der Anteil der Patientinnen sehr schnell ab. Duffy et al. (1998) fanden eine ähnliche Verteilung der Werte.

Es bestand eine beträchtliche Streuung der Werte, erkennbar an der großen Standardabweichung und dem großen Unterschied zwischen Minimum und Maximum. Dieses Ergebnis findet sich in allen Studien bestätigt (Tab. 7).

In dieser Studie lagen die PAI-1-Werte im Mittel bei $30,6 \pm 29,3$ ng/mg und im Median bei 22,7 ng/mg. Auch hierbei weichen die Literaturangaben wieder sehr stark voneinander ab (Tab. 7). Die Angaben reichen von im Median 0,70 ng/mg (Malmström et al. 2001) bis im Median 14,3 ng/mg für nodal-negative Patientinnen (Foekens et al. 2000).

Wie schon für uPA beschrieben, bestand auch für PAI-1 eine beträchtliche Streuung der Werte, sowohl nach der eigenen Studie als auch den Angaben in der Literatur (Tab. 7).

In dieser Studie wurden PAI-2-Werte von im Mittel $1,76 \pm 6,88$ ng/mg und Median 0 ng/mg ermittelt. Über die Bestimmung der PAI-2-Werte bei nodal-negativen Patientinnen wurde nur in den beiden Studien von Cufer et al. (2003) und Foekens et al. (2000) berichtet (Tab. 7). Hier lagen die Werte höher als in der vorliegenden Untersuchung.

5.3 Her-2-neu

Eine Überexpression von Her-2-neu war bei 29,3 % der Patientinnen nachweisbar. Harbeck et al. (1999a) fanden bei 45,5 % der Patientinnen eine Überexpression von Her-2-neu. Während nach Harbeck et al. (1999a) keine prognostische Bedeutung vorliegt, ermittelten Dutta (2007), Eljuga et al. (2011), Offersen et al. (2008) und Zemzoum (2003) einen signifikanten Zusammenhang mit einer verminderten Überlebenszeit.

5.4 Korrelationen

Es sollte bestimmt werden, ob eine Korrelation zwischen uPA, PAI-1 und PAI-2 besteht. Dies konnte bestätigt werden. Weiterhin galt es zu klären, ob auch Korrelationen zwischen uPA, PAI-1 und PAI-2 mit den etablierten prädiktiven Faktoren Tumorgröße, Grading, histo-

logischer Typ, Steroidhormonrezeptorstatus, Alter und Menopausenstatus bestehen. Dabei wurde festgestellt, dass uPA, PAI-1 und PAI-2 hochsignifikant positiv mit dem Tumorgrading korrelierten. PAI-2 korrelierte hochsignifikant negativ mit Östrogen (ERscore) und Progesteron (PRscore). Weitere Korrelationen zwischen uPA, PAI-1 und PAI-2 mit den prädiktiven Faktoren bestanden nicht.

Bei ausschließlich nodal-negativen Patientinnen ermittelten Harbeck et al. (1998) und De Cremoux et al. (2009), Manders et al. (2004b), Meo et al. (2004) und Pedersen et al. (2003), ebenfalls eine hochsignifikante Korrelation zwischen uPA und PAI-1 und Kute et al. (1998) eine signifikante Korrelation. Harbeck et al. (1998) fanden zudem eine signifikante Korrelation zwischen PAI-1 und Grading sowie hochsignifikante Korrelation zwischen PAI-1 und Tumorgröße. Streckert (2009) fand Tendenzen ($p < 0,1$) zwischen uPA und Grading, uPA und Stadium, PAI-1 und Grading sowie PAI-1 und Stadium. Kute et al. (1998) ermittelten eine signifikante Korrelation zwischen uPA und Grading. Dazzi et al. (2003) fanden bei einem Kollektiv von 81 Patientinnen mit Mammakarzinom, davon 40 nodalnegativ, ebenfalls hochsignifikante Korrelationen zwischen uPA und PAI-1, PAI-1 und Grading sowie uPA und Tumorgröße.

5.5 Prognostische Bedeutung der Tumorproteasen

Ein wichtiges Ziel dieser Studie bestand darin zu klären, ob die Tumorproteasen uPA, PAI-1 und PAI-2 zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bereits eine prognostische Aussagekraft für die Entstehung von Metastasen haben. Bei den Patientinnen wurden nur sehr wenige Rezidive oder Metastasen festgestellt, so ein Reziv der Thoraxwand R1 G2, eine ossäre Metastase der BWS und LWS, pulmonal kleinste Herde und eine fragliche ossäre Metastase der LWS. Die Werte der Tumorproteasen waren dabei im Rahmen des gesamten Kollektivs, die Werte also unauffällig. Eine prognostische Aussagekraft für die Entstehung von Metastasen kann schon aufgrund der geringen Fallzahl nicht abgeleitet werden, zumal die Werte, wie bereits in zahlreichen Studien festgestellt wurde (siehe Kap. 5.2), sehr stark streuen.

Allerdings ergab die Auswertung der Literatur, dass eine Bestimmung zu einem späteren Zeitpunkt durchaus sinnvoll sein kann. Dabei müssen die einzelnen Tumorproteasen differenziert betrachtet werden.

Bei nodal-negativen Patientinnen mit Mammakarzinomen sind hohe uPA-Werte und/oder hohe PAI-1-Werte mit einer verringerten Überlebenszeit und hohe PAI-2-Werte mit einer erhöhten Überlebenszeit verbunden. Die in der Literatur veröffentlichten Studien wurden daraufhin ausgewertet, ob diese Zusammenhänge für das rezidivfreie Überleben und für das gesamte Überleben signifikant sind ($p < 0,05$).

Demnach wurde für uPA in 16/21 Studien (76 %) nach univariater Analyse ein signifikanter Zusammenhang mit dem rezidivfreien Überleben gefunden und nach multivariater Analyse nur in 6/17 Studien (35 %). Für das gesamte Überleben fand sich in 5/12 Studien (42 %) nach univariater Analyse und in 4/10 Studien (40 %) nach multivariater Analyse ein signifikanter Zusammenhang (Tab. 8).

Hinsichtlich PAI-1 fand sich in der Literatur im Vergleich zu uPA häufiger ein signifikanter Zusammenhang. So wurde in 17/19 Studien (81 %) nach univariater Analyse ein signifikanter Zusammenhang mit dem rezidivfreien Überleben gefunden und nach multivariater Analyse in allen 14 Studien (100 %). Für das gesamte Überleben lag in 10/11 Studien (91 %) nach univariater Analyse und in 9/10 Studien (90 %) nach multivariater Analyse ein signifikanter Zusammenhang vor (Tab. 9).

Zu PAI-2 fanden sich in der Literatur insgesamt nur vier Studien, in denen der Zusammenhang mit dem Überleben von nodal-negativen Patientinnen untersucht wurde. Da die Ergebnisse dieser Studien zudem inkonsistent sind, kann ein Zusammenhang eher nicht abgeleitet werden (Tab. 10).

Wie bereits im Zusammenhang mit der Bestimmung der Tumorproteasen vermerkt wurde, sind die Ergebnisse der Studien sehr inkonsistent. Als Begründung für die Abweichungen sei wieder auf die unterschiedlichen Versuchsprotokolle verwiesen (siehe Kap. 5.2). Ein weiterer bedeutender Einflussfaktor stellt die Behandlung der Patienten dar. Beispielsweise stellten Eljuga et al. (2011) fest, dass der Zusammenhang zwischen PAI-1 und der Überlebenszeit nur für diejenigen Patientinnen gilt, die keine Chemotherapie erhalten haben.

Mit dem Problem der unterschiedlichen Versuchsprotokolle und der daraus resultierenden stark abweichenden Ergebnisse verknüpft ist die Festlegung der Schwellenwerte. Meist werden Schwellenwerte für uPA von 3 ng/mg Protein und PAI-1 von 14 ng/mg Protein für die Abgrenzung von positiv vs. negativ zugrundegelegt (Thomssen et al. 2009). Angesichts der großen Unterschiede der Werte in den einzelnen Studien scheint aber die allgemeine Gültigkeit dieser Schwellenwerte fraglich.

Tab. 8: uPA als Prognosemarker für Patientinnen mit nodal-negativen Mammakarzinomen, angegeben sind die p-Werte nach univariater und multivariater Analyse

Autor	n	Rezidivfreies Überleben		gesamtes Überleben	
		univariat	multivar.	univariat	multivar.
Bouchet et al. (1994)	146	n.s.	n.a.	n.s.	n.a.
Bouchet et al. (2003)	226	0,008	n.s.	<0,001	0,03
Descotes et al. (2008)	338	0,062	0,499	n.a.	n.a.
Duffy et al. (1994)	79	<0,05	n.a.	0,055	n.a.
Duffy et al. (1998)	87	0,0001	0,0004	0,0002	0,006
Eppenberger et al. (1998)	190	0,02	0,03	n.a.	n.a.
Fernö et al. (1996)	265	0,025	n.a.	n.a.	n.a.
Foekens et al. (1992)	50	n.a.	0,002	n.a.	n.a.
Foekens et al. (2000)	1405	n.a.	<0,001	n.a.	<0,0001
Harbeck et al. (1998)	100	0,0437	n.s.	n.s.	n.a.
Harbeck et al. (1999a)	125	0,008	n.s.	n.s.	n.s.
Harbeck et al. (1999b)	139	0,010	n.s.	0,670	n.a.
Harbeck et al. (2000, 2001)	130	n.a.	n.s.	n.a.	n.s.
Jänicke et al. (1993)	101	0,0098	0,0136	n.a.	n.a.
Kim et al. (1998)	130	0,006	n.a.	n.a.	n.a.
Kute et al. (1998)	116	n.s.	0,35	0,08	0,34
Look et al. (2002)	3483	<0,001	n.a.	n.a.	n.a.
Look et al. (2003)*	2949	<0,001	n.a.	n.a.	n.a.
Malmström et al. (2001)	226	0,0006	n.a.	n.a.	n.a.
Manders et al. (2004b)	576	0,016	0,055	0,041	0,031
Meo et al. (2004)	196	0,0156	n.s.	n.a.	n.a.
Pedersen et al. (2003)	164	0,07	n.s.	0,001	n.s.
Peyrat et al. (1998)	634	0,0008	0,0056	0,038	0,23
Thomssen et al. (1998)	103	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

n.s.: nicht signifikant, n.a.: nicht angegeben, *metastasenfreies Überleben

Tab. 9: PAI-1 als Prognosemarker für Patientinnen mit nodal-negativen Mammakarzinomen, angegeben sind die p-Werte nach univariater und multivariater Analyse

Autor	n	Rezidivfreies Überleben		gesamtes Überleben	
		univariat	multivar.	univariat	multivar.
Bouchet et al. (1994)	146	0,02	n.a.	0,0008	n.a.
Bouchet et al. (2003)	226	<0,001	0,0005	<0,001	0,003
Descotes et al. (2008)	338	<0,001	0,002	n.a.	n.a.
Eljuga et al. (2011)	133	0,089	n.a.	0,009	n.a.
Foekens et al. (2000)	1405	n.a.	<0,0001	n.a.	<0,0001
Harbeck et al. (1998)	100	0,0001	0,0003	0,0001	0,0000
Harbeck et al. (1999a)	125	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Harbeck et al. (1999b)	139	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Harbeck et al. (2000, 2001)	130	n.a.	0,004	n.a.	0,017
Jänicke et al. (1993)	101	0,0036	0,0189	n.a.	n.a.
Kim et al. (1998)	130	0,032	n.a.	n.a.	n.a.
Kute et al. (1998)	135	0,04	0,0001	n.s.	0,82
Look et al. (2002)	3483	<0,001	n.a.	n.a.	n.a.
Look et al. (2003)*	2949	<0,001	n.a.	n.a.	n.a.
Malmström et al. (2001)	226	0,30	n.a.	n.a.	n.a.
Manders et al. (2004b)	576	<0,001	0,007	0,025	n.a.
Meo et al. (2004)	196	0,0015	0,0063	n.a.	n.a.
Offersen et al. (2008)	191	0,02	n.a.	n.a.	n.a.
Pedersen et al. (2003)	164	0,005	n.s.	<0,0001	n.s.
Schmitt et al. (1997b)	147	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Thomssen et al. (1998)	103	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

n.s.: nicht signifikant, n.a.: nicht angegeben, *metastasenfreies Überleben

Tab. 10: PAI-2 als Prognosemarker für Patientinnen mit nodal-negativen Mammakarzinomen, angegeben sind die p-Werte nach univariater und multivariater Analyse

Autor	n	Rezidivfreies Überleben		gesamtes Überleben	
		univariat	multivar.	univariat	multivar.
Bouchet et al. (1994)	146	0,02	n.a.	n.s.	n.a.
Duggan et al. (1997)	62	n.s.	n.a.	n.s.	n.a.
Foekens et al. (1995)	460	n.s.	n.a.	n.s.	n.a.
Foekens et al. (2000)	1405	n.a.	<0,002	n.a.	0,20

n.s.: nicht signifikant, n.a.: nicht angegeben

Die prognostische Bedeutung von uPA und PAI-1 ist von den etablierten Prognosefaktoren wie Nodalstatus, Tumorgröße, Grading, Hormonrezeptor- oder Menopausenstatus unabhängig. Die prognostische Aussagekraft wird durch die gleichzeitige Berücksichtigung von uPA und PAI-1 erhöht. Die beste Unterscheidung zwischen Hoch- und Niedrigrisiko-Patientinnen wird durch die Einteilung in uPA und PAI-1 niedrig versus uPA und/oder PAI-1 hoch erzielt (Harbeck 2002a, 2003, Jänicke et al. 2001).

Für Prognosefaktoren wird gefordert, dass die Bestimmung in der allgemeinen Routine leicht durchführbar ist. Dies gilt auch für geringe Gewebemengen bei kleinen nodal-negativen Tumoren (Decker et al. 2009). Nach Richtlinien wird für die Bestimmung von uPA und PAI-1 die Verwendung von 300 mg frischem oder frischgefrorenem Tumorgewebe empfohlen. Allerdings ermöglicht die präoperative diagnostische ultraschallgeführte Kernnadelbiopsie die Früherkennung von kleinen Tumoren und liefert viel kleinere Tumorproben. Es wurde aber festgestellt, dass diese ebenfalls für eine routinemäßige uPA- und PAI-1-Bestimmung geeignet sind (Thomssen et al. 2009).

5.6 Schlussfolgerung

Das wichtigste Ziel dieser Studie bestand darin zu klären, ob eine Bestimmung von uPA, PAI-1 und PAI-2 bei Patientinnen mit nodal-negativen Mammakarzinomen sinnvoll ist. Nach den eigenen Ergebnissen ist eine Bestimmung zumindest im Anfangsstadium noch nicht zweckmäßig. PAI-2 liefert keine zusätzlichen Informationen und ist klinisch nicht relevant. Eine Identifizierung von besonders gefährdeten Patientinnen ist nicht möglich, Patientinnen mit Rezidiven und Metastasen ließen sich nicht ermitteln.

Allerdings kann abgeleitet werden, dass eine Bestimmung zu einem späteren Zeitpunkt durchaus sinnvoll sein kann. So zeigten zahlreiche Studien, dass hohe uPA-Werte und PAI-1-Werte mit einer verringerten Überlebenszeit auch bei nodal-negativen Patientinnen einhergehen. uPA und PAI-1 stellen somit für solche Patientinnen Prognosemarker dar.

Die Bestimmung von uPA/PAI-1 bei Patientinnen mit nodal-negativen primären Mammakarzinom im Rahmen der täglichen klinischen Routine wurde in die AGO-Empfehlungen (Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie) (AGO 2011) (siehe Tab. 12, Anhang) und die ASCO-Empfehlungen (American Society of Clinical Oncology) (Harris et al. 2007) aufgenommen. Aktuell liegt das höchste Evidenzniveau ‚1a‘ nach dem Oxford Levels of Evidence (LOE) (siehe Tab. 13, Anhang) und ‚A‘ nach den Oxford Grades of Recommendation (GR) (siehe Tab. 14, Anhang) und das zweithöchste ‚+‘ nach den AGO Grades of Recommendation vor (siehe Tab. 15, Anhang) (AGO 2010, 2011).

Dennoch stellt eine sichere Erkennung der gefährdeten nodal-negativen Patientinnen bis heute ein ungelöstes Problem dar, wobei auch in den letzten 10 Jahren kaum Fortschritte erzielt wurden. Nach wie vor müssen weitere Biomarker gefunden werden, um die Patientinnen zu unterscheiden, die entweder von einer Chemotherapie profitieren oder bei denen eine Chemotherapie vermieden werden kann (Harbeck und Thomssen 2011, Kantelhardt et al. 2011). Deren Bewertung kann nur in großen prospektiven klinischen Studien erfolgen (Decker et al. 2009). Neue molekulare Werkzeuge, einschließlich der intrinsischen molekularen Subtypen oder prognostischen multigenen Assays, könnten weitere prognostische und prädiktive Informationen liefern. Damit ließen sich die Abschätzungen des Risikos eines Rezidivs und der Wahrscheinlichkeit des Ansprechens auf eine Chemotherapie verbessern (Bedard und Cardoso 2011, Schmidt et al. 2010).

6 Zusammenfassung

In der vorliegenden retrospektiven Studie wurden die Daten von 205 Patientinnen mit primären nodal-negativen Mammakarzinomen ausgewertet. Die Patientinnen wurden im Zeitraum von 2002 bis 2008 in den Augusta-Krankenanstalten Bochum GmbH behandelt. Das Ziel lag darin, die Wertigkeit der Serinprotease Urokinase Plasminogen Aktivator (uPA) und ihren Inhibitoren, Plasminogen Aktivator Inhibitor Typ 1 (PAI-1) und Typ 2 (PAI-2), als prognostische und für Patientinnen mit nodal-negativen Mammakarzinom zu bestimmen. Als Basis hierzu diente neben den eigenen Ergebnissen eine umfassende Auswertung der Literatur.

Die uPA-Werte lagen im Mittel bei $4,23 \pm 3,75$ ng/mg und im Median bei 3,2 ng/mg. Die Werte lagen im Rahmen der Literaturangaben, wobei diese sehr stark voneinander abweichen. Die ermittelte beträchtliche Streuung der Werte findet sich in allen Studien bestätigt.

Es wurden PAI-1-Werte von im Mittel $30,6 \pm 29,3$ ng/mg und im Median 22,7 ng/mg ermittelt. Auch hierbei weichen die Literaturangaben sehr stark voneinander ab. Die beträchtliche Streuung der Werte spiegelt sich ebenfalls in der Literatur wieder.

Die PAI-2-Werte wurden mit im Mittel $1,76 \pm 6,88$ ng/mg und Median 0 ng/mg bestimmt. In der Literatur finden sich nur wenige Vergleichsangaben.

Die Tumorproteasen uPA, PAI-1 und PAI-2 und die etablierten prädiktiven Faktoren Tumorgröße, Grading, histologischer Typ, Steroidhormonrezeptorstatus, Alter und Menopausenstatus wurden auf Korrelation getestet. Es bestand eine hochsignifikante Korrelation zwischen uPA, PAI-1 und PAI-2. uPA, PAI-1 und PAI-2 korrelierten hochsignifikant positiv mit dem Tumorgrading. PAI-2 korrelierte hochsignifikant negativ mit Östrogen (ERscore) und Progesteron (PRscore). Weitere Korrelationen bestanden nicht.

Eine prognostische Bedeutung der Tumorproteasen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung konnte wegen der geringen Fallzahl Rezidive oder Metastasen statistisch nicht abgeleitet werden.

Die in der Literatur veröffentlichten Studien wurden daraufhin ausgewertet, ob signifikante Zusammenhänge zwischen den Konzentrationen der Tumorproteasen mit dem rezidivfreien Überleben und dem gesamten Überleben bestehen.

Demnach wurde für uPA in 16/21 Studien (76 %) nach univariater Analyse ein signifikanter Zusammenhang mit dem rezidivfreien Überleben gefunden und nach multivariater Analyse nur in 6/17 Studien (35 %). Für das gesamte Überleben fand sich in 5/12 Studien (42 %) nach

univariater Analyse und in 4/10 Studien (40 %) nach multivariater Analyse ein signifikanter Zusammenhang.

Hinsichtlich PAI-1 wurde in 17/19 Studien (81 %) nach univariater Analyse ein signifikanter Zusammenhang mit dem rezidivfreien Überleben gefunden und nach multivariater Analyse in allen 14 Studien (100 %). Für das gesamte Überleben lag in 10/11 Studien (91 %) nach univariater Analyse und in 9/10 Studien (90 %) nach multivariater Analyse ein signifikanter Zusammenhang vor.

Zu PAI-2 fanden sich in der Literatur nur wenige Studien mit zudem inkonsistenten Ergebnissen. Ein Zusammenhang kann eher nicht abgeleitet werden.

uPA und PAI-1 stellen somit für nodal-negative Patientinnen Prognosemarker dar. Die Bestimmung von uPA/PAI-1 wird daher von der AGO (Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie) und der ASCO (American Society of Clinical Oncology) im Rahmen der täglichen klinischen Routine empfohlen.

Dennoch stellt eine sichere Erkennung der gefährdeten nodal-negativen Patientinnen bis heute ein ungelöstes Problem dar. Dies bedeutet, dass weitere Biomarker gefunden werden müssen, um die Patientinnen zu unterscheiden, die entweder von einer Chemotherapie profitieren oder bei denen eine Chemotherapie vermieden werden kann.

7 Literaturverzeichnis

1. AGO 2010:
Kommission Mamma der Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie e. V. in der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe e. V. sowie in der Deutschen Krebsgesellschaft e. V. (Hrsg).
Diagnosis and Treatment of Patients with Primary and Metastatic Breast Cancer.
Guidelines of the AGO Breast Commission.
Aktualisierung: 19.07.2010
http://www.ago-online.de/_download/unprotected/g_mamma_10_1_1_00_introduction.pdf
2. AGO 2011:
Kommission Mamma der Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie e. V. in der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe e. V. sowie in der Deutschen Krebsgesellschaft e. V. (Hrsg).
Diagnosis and Treatment of Patients with Primary and Metastatic Breast Cancer.
Prognostic and predictive factors.
Aktualisierung: 05.03.2011
http://www.ago-online.de/_download/unprotected/g_mamma_11_1_0_d_18_prognostic_predictive_factors.pdf
3. Alfano D, Franco P, Vocca I, Gambi N, Pisa V, Mancini A, Caputi M, Carriero MV, Iaccarino I, Stoppelli MP:
The urokinase plasminogen activator and its receptor: role in cell growth and apoptosis.
Thromb Haemost 2005; 93: 205-211
4. Altman DG:
Systematic reviews in health care: Systematic reviews of evaluations of prognostic variables.
Br Med J 2001; 323: 224-228
5. Alvarez-Millán JJ, Bocos C, Ferrín V, Lucas AR, Ruibal A, Schneider J:
PAI-1 promoter polymorphism modulates uPA-PAI complex accumulation by breast cancer cells.
Oncology 2002; 62: 286-290

6. Andreasen PA, Georg B, Lund LR, Riccio A, Stacey SN:
Plasminogen activator inhibitors: hormonally regulated serpins.
Mol Cell Endocrinol 1990; 68: 1-19
7. Andreasen PA, Kjøller L, Christensen L, Duffy MJ:
The urokinase-type plasminogen activator system in cancer metastasis: A review.
Int J Cancer 1997; 72: 1-22
8. Annecke K, Schmitt M, Euler U, Zerm M, Paepke D, Paepke S, von Minckwitz G,
Thomssen C, Harbeck N:
uPA and PAI-1 in breast cancer: review of their clinical utility and current validation in
the prospective NNBC-3 trial.
Adv Clin Chem 2008; 45: 31-45
9. Arriagada R, Le MG, Dunant A, Tubiana M, Contesso G:
Twenty-five years of follow-up in patients with operable breast carcinoma: Correlation
between clinicopathologic factors and the risk of death in each 5-year period.
Cancer 2006; 106: 743-750
10. Bajou K, Masson V, Gerard RD, Schmitt PM, Albert V, Praus M, Lund LR, Frandsen
TL, Brønner N, Danø K, Fusening NE, Weidle U, Carmeliet G, Loskutoff D, Collen D,
Carmeliet P, Foidart JM, Noël A:
The plasminogen activator inhibitor PAI-1 controls in vivo tumor vascularization by
interaction with proteases, not vitronectin. Implications for antiangiogenic strategies.
J Cell Biol 2001; 152: 777-784
11. Beaulieu LM, Whitley BR, Wiesner TF, Rehault SM, Palmieri D, Elkahloun AG,
Church FC:
Breast cancer and metabolic syndrome linked through the plasminogen activator
inhibitor-1 cycle.
Bioessays 2007; 29: 1029-1038
12. Bedard PL, Cardoso F:
Can some patients avoid adjuvant chemotherapy for early-stage breast cancer?
Nat Rev Clin Oncol 2011; 8: 272-279
13. Behrendt N, Rønne E, Plougs M, Petri T, Løber D, Nielsen LS, Schleuning WD, Blasi
F, Appella E, Danø K:
The human receptor for urokinase plasminogen activator.
J Biol Chem 1990; 265: 6453-6460

14. Blasi F:
Proteolysis, cell adhesion, chemotaxis, and invasiveness are regulated by the uPA-u-PAI-1 system.
Thromb Haemost 1999; 82: 298-304
15. Borstnar S, Vrhovec I, Cufer T:
Prognostic value of plasminogen activator inhibitors in breast cancer.
Int J Biol Markers 2002a; 17: 96-103
16. Borstnar S, Vrhovec I, Svetic B, Cufer T:
Prognostic value of the urokinase-type plasminogen activator, and its inhibitors and receptor in breast cancer patients.
Clin Breast Cancer 2002b; 3: 138-146
17. Borstnar S, Sadikov A, Mozina B, Cufer T:
High levels of uPA and PAI-1 predict a good response to anthracyclines.
Breast Cancer Res Treat 2010; 121: 615-624
18. Bouchet C, Spyrtos F, Martin PM, Hacène K, Gentile A, Oglobine J:
Prognostic value of urokinasetype plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitors PAI-1 and PAI-2 in breast carcinomas.
Br J Cancer 1994; 69: 398-405
19. Bouchet C, Hacène K, Martin PM, Becette V, Tubiana-Hulin M, Lasry S, Oglobine J, Spyrtos F.
Dissemination risk index based on plasminogen activator system components in primary breast cancer.
J Clin Oncol 1999; 17: 3048-3057
20. Bouchet C, Ferrero-Poüs M, Hacène K, Becette V, Spyrtos F.
Limited prognostic value of c-erbB-2 compared to uPA and PAI-1 in primary breast carcinoma.
Int J Biol Markers 2003; 18: 207-217
21. Broët P, Spyrtos F, Romain S, Quillien V, Daver A, Ricolleau G, Rallet A, Toulas C, Asselain B:
Prognostic value of uPA and p53 accumulation measured by quantitative biochemical assays in 1245 primary breast cancer patients: a multicentre study.
Br J Cancer 1999, 80: 536-645

22. Camiolo SM, Markus G, Piver MS:
Plasminogen activator content of gynaecological tumors and their metastases.
Gynecologic Oncology 1987; 26: 364-373
23. Candia BJ, Hines WC, Heaphy CM, Griffith JK, Orlando RA:
Protease nexin-1 expression is altered in human breast cancer.
Cancer Cell Int 2006; 6: 16
24. Carter CL, Allen C, Henson DE:
Relation of tumor size, lymph node status and survival in 24,740 breast cancer cases.
Cancer 1989; 63: 181-187
25. Castelló R, Estellés A, Vázquez C, Falcó C, España F, Almenar SM, Fuster C, Aznar J:
Quantitative real-time reverse transcription-PCR assay for urokinase plasminogen
activator, plasminogen activator inhibitor type 1, and tissue metalloproteinase inhibitor
type 1 gene expressions in primary breast cancer.
Clin Chem 2002; 48: 1288-1295
26. Castelló R, Landete JM, España F, Vázquez C, Fuster C, Almenar SM, Ramón LA,
Radtke KP, Estellés A:
Expression of plasminogen activator inhibitors type 1 and type 3 and urokinase
plasminogen activator protein and mRNA in breast cancer.
Thromb Res 2007; 120: 753-762
27. Chazaud B, Ricoux R, Christov C, Plonquet A, Gherardi RK, Barlovatz-Meimom G:
Promigratory effect of plasminogen activator inhibitor-1 on invasive breast cancer cell
populations.
Am J Pathol 2002; 160: 237-246
28. Clark G:
Prognostic and predictive factors.
In: *Diseases of the breast*. Harris JR, Lippmann ME, Morrow M, Osborne CK (eds).
Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers 2000, pp 489-514
29. Conese M, Blasi F:
The urokinase/urokinase-receptor system and cancer invasion.
Bail Clin Haematol 1995; 8: 365-389

30. Costantini V, Sidoni A, Deveglio R, Cazzato OA, Bellezza G, Ferri I, Bucciarelli E, Nenci GG:
Combined overexpression of urokinase, urokinase receptor, and plasminogen activator inhibitor-1 is associated with breast cancer progression: an immunohistochemical comparison of normal, benign, and malignant breast tissues.
Cancer 1996; 77: 1079-1088
31. Cufer T, Vrhovec I, Borstnar S:
Prognostic significance of plasminogen activator inhibitor-1 in breast cancer, with special emphasis on locoregional recurrence-free survival.
Int J Biol Markers 2002; 17: 33-41
32. Cufer T, Borstnar S, Vrhovec I:
Prognostic and predictive value of the urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its inhibitors PAI-1 and PAI-2 in operable breast cancer.
Int J Biol Markers 2003; 18: 106-115
33. Czekay RP, Aertgeerts K, Curriden SA, Loskutoff DJ:
Plasminogen activator inhibitor-1 detaches cells from extracellular matrices by inactivating integrins.
J Cell Biol 2003; 160: 781-791
34. Dalton LW, Pinder SE, Elston CE, Ellis IO, Page DL, Dupont WD, Blamey RW:
Histologic grading of breast cancer: Linkage of patient outcome with level of pathologist agreement.
Mod Pathol 2000; 13: 730-735
35. Danø K, Behrendt N, Høyer-Hansen G, Johnsen M, Lund LR, Ploug M, Rømer J:
Plasminogen activation and cancer.
Thromb Haemost 2005; 93: 676-681
36. Dazzi C, Cariello A, Maioli P, Magi S, Rosti G, Giovanis P, Giovannini G, Lanza G, Marangolo M:
A high cytosol value of urokinase-type plasminogen activator (uPA) may be predictive of early relapse in primary breast cancer.
Cancer Invest 2003; 21: 208-216
37. Decker T, Hungermann D, Böcker W:
Prognostische und prädiktive Faktoren invasiver Mammakarzinome. Update 2009.
Pathologie 2009; 30: 49-55

38. De Cremoux P, Grandin L, Diéras V, Savignoni A, Degeorges A, Salmon R, Bollet MA, Reyat F, Sigal-Zafrani B, Vincent-Salomon A, Sastre-Garau X, Magdelénat H, Mignot L, Fourquet A; Breast Cancer Study Group of the Institut Curie:
Urokinase-type plasminogen activator and plasminogen-activator-inhibitor type 1 predict metastases in good prognosis breast cancer patients.
Anticancer Res 2009; 29: 1475-1482
39. D'Eredita G, Giardina C, Martellotta M, Natale T, Ferrarese F:
Prognostic factors in breast cancer: the predictive value of the Nottingham Prognostic Index in patients with a long-term follow-up that were treated in a single institution. *Eur J Cancer* 2001 37: 591-596
40. Degryse B, Sier CF, Resnati M, Conese M, Blasi F:
PAI-1 inhibits urokinase-induced chemotaxis by internalizing the urokinase-receptor. *FEBS Lett* 2001; 505: 249-254
41. Dellas C, Loskutoff DJ:
Historical analysis of PAI-1 from its discovery to its potential role in cell motility and disease.
Thromb Haemost 2005; 93: 631-640
42. Deng G, Curriden SA, Hu G, Czekay RP, Loskutoff DJ:
Plasminogen activator inhibitor-1 regulates cell adhesion by binding to the somatomedin B domain of vitronectin.
J Cell Physiol 2001; 189: 23-33
43. Descotes F, Riche B, Saez S, De Laroche G, Datchary J, Roy P, André J, Bobin JY:
Plasminogen activator inhibitor type 1 is the most significant of the usual tissue prognostic factors in node-negative breast ductal adenocarcinoma independent of urokinase-type plasminogen activator.
Clin Breast Cancer 2008; 8: 168-177
44. Duffy MJ, O'Grady P, Devaney D, O'Siorain L, Fennelly JJ, Lijnen HJ:
Urokinase-plasminogen activator, a marker for aggressive breast carcinomas. Preliminary report.
Cancer 1988; 62: 531-533
45. Duffy MJ, Reilly D, O'Sullivan C, O'Higgins N, Fennelly JJ, Andreasen P:
Urokinase-plasminogen activator, a new and independent prognostic marker in breast cancer.
Cancer Res 1990; 50: 6827-6829

46. Duffy MJ, Reilly D, McDermott E, O'Higgins N, Fennelly JJ, Andreasen PA:
Urokinase plasminogen activator as a prognostic marker in different subgroups of patients with breast cancer.
Cancer 1994; 74: 2276-2280
47. Duffy MJ, Duggan C, Mulcahy HE, McDermott EW, O'Higgins NJ:
Urokinase plasminogen activator: a prognostic marker in breast cancer including patients with axillary node-negative disease.
Clin Chem 1998, 44:1177-1183
48. Duffy MJ, Duggan C:
The urokinase plasminogen activator system: a rich source of tumor markers for the individualised management of patients with cancer.
Clin Biochem 2004; 37: 541-548
49. Duggan C, Kennedy S, Kramer MD, Barnes C, Elvin P, McDermott E, O'Higgins N, Duffy MJ:
Plasminogen activator inhibitor type 2 in breast cancer.
Br J Cancer 1997; 76: 622-627
50. Durand MK, Bodker JS, Christensen A, Dupont DM, Hansen M, Jensen JK, Kjelgaard S, Mathiasen L, Pedersen KE, Skeldal S, Wind T, Andreasen PA:
Plasminogen activator inhibitor-I and tumour growth, invasion, and metastasis.
Thromb Haemost 2004; 91: 438-449
51. Dutta M:
Klinische Bedeutung der Invasionsfaktoren uPA/PAI-1 sowie der HER-2-Genamplifikation und HER-2-Proteinüberexpression für die Risikogruppeneinstufung beim nodal-negativen Mammakarzinom.
Technischen Universität München, Dissertation 2007
52. Eljuga D, Razumovic JJ, Bulic K, Petroveckii M, Draca N, Bulic SO:
Prognostic importance of PAI-1 in node negative breast cancer patients-Results after 10 years of follow up.
Pathol Res Pract 2011; 207: 290-294
53. Ellis V, Wunt T-C, Behrendt N, Rønne E, Danø K:
Inhibition of receptor-bound urokinase by plasminogen-activator inhibitors.
J Biol Chem 1990; 265: 9904-9908

54. Elston CW, Ellis IO:
Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up.
Histopathology 1991; 19: 403-410
55. Elston CW, Ellis IO:
Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. C. W. Elston & I. O. Ellis. *Histopathology* 1991; 19: 403-410. Author Commentary.
Histopathology 2002; 41: 151-153
56. Engel J, Beinert T, Delius M, Hölzel D, Schubert-Fritschle G:
Epidemiologie.
In: Janni W, Tumorzentrum München (Hrsg.): *Manual Mammakarzinome: Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge*. 11. Aufl.
München: Zuckschwerdt 2007, S. 1-11
57. Eppenberger U, Kueng W, Schlaeppli JM, Roesel JL, Benz C, Mueller H, Matter A, Zuber M, Luescher K, Litschgi M, Schmitt M, Foekens JA, Eppenberger-Castori S:
Markers of tumor angiogenesis and proteolysis independently define high- and low-risk subsets of node-negative breast cancer patients.
J Clin Oncol 1998; 16: 3129-3136
58. Fernö N, Behdahl PO, Borg Å, Brundell J, Hirschberg L, Olsson H, Killander D:
Urokinase plasminogen activator, a strong independent prognostic factor in breast cancer, analysed in steroid receptor cytosols with a luminometric immunoassay.
Eur J Cancer 1996; 32A: 793-801
59. Fersis N, Kaufmann M, Kramer MD, Wittman G, Wallwiener D, Bastert G:
Prognostische Bedeutung des Plasminogenaktivator Inhibitor- (PAI-1) beim primären Mammakarzinom.
Geburtsh Frauenheilk 1996, 56: 28-34
60. Fisher B, Redmond C, Fisher ER, Caplan R:
Relative worth of estrogen or progesterone receptor and pathologic characteristics of differentiation as indicators of prognosis in node negative breast cancer patients: findings from national surgical adjuvant breast and bowel project protocol B-06.
J Clin Oncol 1988; 6: 1076-1087

61. Foekens JA, Schmitt M, van Putten WLJ, Peters HA, Bontenbal M, Jänicke F, Klijn JGM:
Prognostic value of urokinase-type plasminogen activator in 671 primary breast cancer patients.
Cancer Res 1992; 52:6101-6105
62. Foekens JA, Schmitt M, van Putten WLJ, Peters HA, Kramer MD, Jänicke F, Klijn JGM:
Plasminogen activator inhibitor-1 and prognosis in primary breast cancer.
J Clin Oncol 1994; 12: 1648-1658
63. Foekens JA, Buessecker F, Peters HA, Krainick U, van Putten WLJ, Look MP, Klijn JGM, Kramer MD:
Plasminogen activator inhibitor-2: prognostic relevance in 1012 patients with primary breast cancer.
Cancer Res 1995; 55:1423-1427
64. Foekens JA, Peters HA, Look MP, Portengen H, Schmitt M, Kramer MD, Brüner N, Jänicke F, Meijer-van Gelder ME, Henzen-Logmans SC, van Putten WL, Klijn JG:
The urokinase system of plasminogen activation and prognosis in 2780 breast cancer patients.
Cancer Res 2000; 60: 636-643
65. Frierson HF Jr, Wolber RA, Berean KW, Franquemont DW, Gaffey MJ, Boyd JC, Wilbur DC:
Interobserver reproducibility of the Nottingham modification of the Bloom and Richardson histologic grading scheme for infiltrating ductal carcinoma.
Am J Clin Pathol 1995; 103: 195-198
66. Goldhirsch A, Wood WC, Gelber RD, Coates AS, Thürlimann B, Senn HJ & Panel Members:
Progress and promise: highlights of the international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2007.
Ann Oncol 2007; 18: 1133-1144
67. Graeff H, Jänicke F, Schmitt M:
Klinische und prognostische Bedeutung tumorassoziierter Proteasen in der gynäkologischen Onkologie.
Geburtsh Frauenheilk 1991; 51: 90-99

68. Grøndahl-Hansen J, Christensen IJ, Rosenquist C, Brønner N, Mouridsen HT, Danø K, Blichert-Toft M:
High levels of urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor PAI-1 in cytosolic extracts of breast carcinomas are associated with poor prognosis.
Cancer Res 1993; 53: 2513-2521
69. Gutierrez LS, Schulman A, Brito-Robinson T, Noria F, Ploplis VA, Castellino FJ:
Tumor development is retarded in mice lacking the gene for urokinase-type plasminogen activator or its inhibitor, plasminogen activator inhibitor-1.
Cancer Res 2000; 60: 5839-5847
70. Hang MTN, Ranson M, Saunders DN, Liang XM, Bunn CL, Baker MS:
Pharmacokinetics and biodistribution of recombinant human plasminogen activator inhibitor type 2 (PAI-2) in control and tumour xenograft-bearing mice.
Fibrinol Proteol 1998; 12: 145-154
71. Hansen S, Overgaard J, Rose C, Knoop A, Laenkholm AV, Andersen J, Sørensen FB, Andreasen PA:
Independent prognostic value of angiogenesis and the level of plasminogen activator inhibitor type 1 in breast cancer patients.
Br J Cancer 2003; 88: 102-108
72. Harbeck N, Dettmar P, Thomssen C, Henselmann B, Kuhn W, Ulm K, Jänicke F, Höfler H, Graeff H, Schmitt M:
Prognostic impact of tumor biological factors on survival in node-negative breast cancer.
Anticancer Res 1998; 18: 2187-2197
73. Harbeck N, Dettmar P, Thomssen C, Berger U, Ulm K, Kates R, Höfler H, Jänicke F, Graeff H, Schmitt M:
Risk-group discrimination in node-negative breast cancer using invasion and proliferation markers: 6-year median follow-up.
Br J Cancer 1999a; 80: 419-426
74. Harbeck N, Thomssen C, Berger U, Ulm K, Kates RE, Höfler H, Jänicke F, Graeff H, Schmitt M:
Invasion marker PAI-1 remains a strong prognostic factor after long-term follow-up both for primary breast cancer and following first relapse.
Breast Cancer Res Treat 1999b; 54: 147-157

75. Harbeck N, Alt U, Berger U, Kates R, Krüger A, Thomssen C, Jänicke F, Graeff H, Schmitt M:
Long-term follow-up confirms prognostic impact of PAI-1 and cathepsin D and L in primary breast cancer.
Int J Biol Markers 2000; 15: 79-83
76. Harbeck N, Alt U, Berger U, Krüger A, Thomssen C, Jänicke F, Höfler H, Kates RE, Schmitt M:
Prognostic impact of proteolytic factors (urokinase-type plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor 1, and cathepsins B, D, and L) in primary breast cancer reflects effects of adjuvant systemic therapy.
Clin Cancer Res 2001; 7: 2757-2764
77. Harbeck N, Kates RE, Schmitt M:
Clinical relevance of invasion factors urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1 for individualized therapy decisions in primary breast cancer is greatest when used in combination.
J Clin Oncol 2002a; 20: 1000-1007
78. Harbeck N, Kates RE, Look MP, Meijer-Van Gelder ME, Klijn JG, Krüger A, Kiechle M, Jänicke F, Schmitt M, Foekens JA.
Enhanced benefit from adjuvant chemotherapy in breast cancer patients classified high-risk according to urokinase-type plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitor type 1 (n = 3424).
Cancer Res 2002b; 62: 4617-4622
79. Harbeck N, Thomssen C:
uPA und PAI-1 haben nicht nur eine prognostische, sondern auch eine prädiktive Bedeutung und unterstützen klinische Therapieentscheidungen beim primären Mammakarzinom.
Zentralbl Gynakol 2003; 125: 362-367
80. Harbeck N, Kates RE, Gauger K, Willems A, Kiechle M, Magdolen V, Schmitt M:
Urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its inhibitor PAI-I: novel tumor-derived factors with a high prognostic and predictive impact in breast cancer.
Thromb Haemost 2004; 91: 450-456
81. Harbeck N, Schmitt M, Paepke S, Allgayer H, Kates RE:
Tumor-associated proteolytic factors uPA and PAI-1: critical appraisal of their clinical relevance in breast cancer and their integration into decision-support algorithms.
Crit Rev Clin Lab Sci 2007; 44: 179-201

82. Harbeck N, Thomssen C:
A new look at node-negative breast cancer.
Oncologist 2011; 16 (Suppl 1): 51-60
83. Harris L, Fritsche H, Mennel R, Norton L, Ravdin P, Taube S, Somerfield MR, Hayes DF, Bast RC Jr:
American society of clinical oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer.
J Clin Oncol 2007; 25: 5287-5312
84. Haybittle JL, Blamey RW, Elston CW Johnson J, Doyle PJ, Campbell FC, Nicholson RI, Griffiths K:
A prognostic index in primary breast cancer.
Br J Cancer 1982; 45: 361-366
85. Hayes DF, Trock B, Harris AL:
Assessing the clinical impact of prognostic factors: when is „statistically significant“ clinically useful?
Breast Cancer Res Treat 1998; 52: 305-319
86. Hayes DF:
Arbiter.
Eur J Cancer 2000; 36: 302-306
87. Henderson IC, Patek AJ:
The relationship between prognostic and predictive factors in the management of breast cancer.
Breast Cancer Res Treat 1998; 52: 261-288
88. Isogai C, Laug WE, Shimada H, Declerck PJ, Stins MF, Durden DL, Erdreich-Epstein A, DeClerck YA:
Plasminogen activator inhibitor-1 promotes angiogenesis by stimulating endothelial cell migration toward fibronectin.
Cancer Res 2001; 61: 5587-5594
89. Jänicke F, Schmitt M, Hafter R, Hollrieder A, Babic R, Ulm K, Gössner W, Graeff H:
Urokinase-type plasminogen activator (u-PA) antigen is a predictor of early relapse in breast cancer.
Fibrinolysis 1990, 4: 69-78

90. Jänicke F, Schmitt M, Graeff H:
Clinical relevance of the urokinase-type and the tissue-type plasminogen activator and of their type 1 inhibitor in breast cancer.
Sem Throm Hemostasis 1991, 17: 303-312
91. Jänicke F, Schmitt M, Pache L, Ulm K, Harbeck N, Höfler H, Graeff H:
Urokinase (uPA) and its inhibitor PAI-1 are strong and independent prognostic factors in node-negative breast cancer.
Breast Cancer Res Treat 1993; 24: 195-208
92. Jänicke F:
Bedeutung tumorbiologischer Prognosefaktoren bei der adjuvanten Therapie des nodalnegativen Mammakarzinoms.
Zentralbl Gynäkol 1994; 116: 449-455
93. Jänicke F, Pache L, Schmitt M, Ulm K, Thomssen C, Prechtl A, Graeff H:
Both the cytosols and detergent extracts of breast cancer tissues are suited to evaluate the prognostic impact of the urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor, plasminogen activator inhibitor type 1.
Cancer Res 1994; 54: 2527-2530
94. Jänicke F, Prechtl A, Thomssen C, Harbeck N, Meisner C, Untch M, Sweep CG, Selbmann HK, Graeff H, Schmitt M; German N₀ Study Group:
Randomized adjuvant chemotherapy trial in high-risk, lymph node-negative breast cancer patients identified by urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1.
J Natl Cancer Inst 2001; 93: 913-920
95. Kamber C:
Vom Primärtumor zur Metastase: uPA (Urokinasetypl-Plasminogenaktivator) und PAI-1 (Plasminogenaktivator-Inhibitor Typ 1) Gehalt im primären Mammakarzinomgewebe und korrespondierenden axillären Lymphknoten.
Dissertation, Technische Universität München 2007
96. Kantelhardt EJ, Vetter M, Schmidt M, Veyret C, Augustin D, Hanf V, Meisner C, Paepke D, Schmitt M, Sweep F, von Minckwitz G, Martin PM, Jänicke F, Thomssen C, Harbeck N:
Prospective evaluation of prognostic factors uPA/PAI-1 in node-negative breast cancer: Phase III NNBC3-Europe trial (AGO, GBG, EORTC-PBG) comparing 6 x FEC versus 3 x FEC / 3 x Docetaxel.
BMC Cancer 2011; 11: 140

97. Kim SJ, Shiba E, Kobayashi T, Yayoi E, Furukawa J, Takatsuka Y, Shin E, Koyama H, Inaji H, Takai S:
Prognostic impact of urokinase-type plasminogen activator (PA), PA inhibitor type-1, and tissue-type PA antigen levels in node-negative breast cancer: a prospective study on multicenter basis.
Clin Cancer Res 1998; 4: 177-182
98. Kjølner L:
The urokinase plasminogen activator receptor in the regulation of the actin cytoskeleton and cell motility.
Biol Chem 2002; 383: 5-19
99. Knoop A, Andreasen PA, Andersen JA, Hansen S, Laenkholm AV, Simonsen AC, Andersen J, Overgaard J, Rose C:
Prognostic significance of urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in primary breast cancer.
Br J Cancer 1998; 77: 932-940
100. Kruithof EK, Baker MS, Bunn CL:
Biochemistry, cellular and molecular biology and clinical aspects of plasminogen activator inhibitor type 2.
Blood 1995; 86: 4007-4024
101. Kute TE, Grøndahl-Hansen J, Shao SM, Long R, Russell G, Brünner N:
Low cathepsin D and low plasminogen activator type 1 inhibitor in tumor cytosols defines a group of node negative breast cancer patients with low risk of recurrence.
Breast Cancer Res Treat 1998; 47: 9-16
102. Lee AH, Ellis IO:
The Nottingham Prognostic Index for invasive carcinoma of the breast.
Pathol Oncol Res 2008; 14: 113-115
103. Leissner P, Verjat T, Bachelot T, Paye M, Krause A, Puisieux A, Mougin B:
Prognostic significance of urokinase plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 mRNA expression in lymph node- and hormone receptor-positive breast cancer.
BMC Cancer 2006; 6: 216

104. Look MP, van Putten WL, Duffy MJ, Harbeck N, Christensen IJ, Thomssen C, Kates R, Spyratos F, Fernö M, Eppenberger-Castori S, Sweep CG, Ulm K, Peyrat JP, Martin PM, Magdelenat H, Brünner N, Duggan C, Lisboa BW, Bendahl PO, Quillien V, Daver A, Ricolleau G, Meijer-van Gelder ME, Manders P, Fiets WE, Blankenstein MA, Broët P, Romain S, Daxenbichler G, Windbichler G, Cufer T, Borstnar S, Kueng W, Beex LV, Klijn JG, O'Higgins N, Eppenberger U, Jänicke F, Schmitt M, Foekens JA:
Pooled analysis of prognostic impact of urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor PAI-1 in 8377 breast cancer patients.
J Natl Cancer Inst 2002; 94: 116-128
105. Look M, van Putten W, Duffy M, Harbeck N, Christensen IJ, Thomssen C, Kates R, Spyratos F, Fernö M, Eppenberger-Castori S, Fred Sweep CG, Ulm K, Peyrat JP, Martin PM, Magdelenat H, Brünner N, Duggan C, Lisboa BW, Bendahl PO, Quillien V, Daver A, Ricolleau G, Meijer-van Gelder M, Manders P, Edward Fiets W, Blankenstein M, Broët P, Romain S, Daxenbichler G, Windbichler G, Cufer T, Borstnar S, Kueng W, Beex L, Klijn J, O'Higgins N, Eppenberger U, Jänicke F, Schmitt M, Foekens J:
Pooled analysis of prognostic impact of uPA and PAI-1 in breast cancer patients.
Thromb Haemost 2003; 90: 538-548
106. Lundin J:
The Nottingham prognostic index - from relative to absolute risk prediction.
Eur J Cancer 2007; 43: 1498-1500
107. Luqmani YA, Temmim L, Parkar AH, Mathew M:
Clinical implications of urokinase and tissue type plasminogen activators and their inhibitor (PAI-1) in breast cancer tissue.
Oncol Rep 2002; 9: 645-651
108. Ma Z, Webb DJ, Jo M, Gonias SL:
Endogenously produced urokinase-type plasminogen activator is a major determinant of the basal level of activated ERK/MAP kinase and prevents apoptosis in MDA-MB-231 breast cancer cells.
J Cell Sci 2001; 114: 3387-3396
109. Malmström P, Bendahl PO, Boiesen P, Brünner N, Idvall I, Fernö M; South Sweden Breast Cancer Group.
S-phase fraction and urokinase plasminogen activator are better markers for distant recurrences than Nottingham Prognostic Index and histologic grade in a prospective study of premenopausal lymph node-negative breast cancer.
J Clin Oncol 2001; 19: 2010-2019

110. Manders P, Tjan-Heijnen VC, Span PN, Grebenchtchikov N, Foekens JA, Beex LV, Sweep CG:
Predictive impact of urokinase-type plasminogen activator: plasminogen activator inhibitor type-1 complex on the efficacy of adjuvant systemic therapy in primary breast cancer.
Cancer Res 2004a; 64: 659-664
111. Manders P, Tjan-Heijnen VC, Span PN, Grebenchtchikov N, Geurts-Moespot A, van Tienoven DT, Beex LV, Sweep FC:
Complex of urokinase-type plasminogen activator with its type 1 inhibitor predicts poor outcome in 576 patients with lymph node-negative breast carcinoma.
Cancer 2004b; 101: 486-494
112. Manders P, Tjan-Heijnen VC, Span PN, Grebenchtchikov N, Geurts-Moespot AJ, van Tienoven DT, Beex LV, Sweep FC:
The complex between urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its type-1 inhibitor (PAI-I) independently predicts response to first-line endocrine therapy in advanced breast cancer.
Thromb Haemost 2004c; 91: 514-521
113. Mayerhofer K, Stolzlechner J, Yildiz S, Haider K, Heinzl H, Jakesz R, Pecherstorfer M, Rosen H, Sevela P, Zeillinger R, Speiser P:
Plasminogenaktivatorinhibitor 1 und Prognose beim Mammakarzinom.
Geburtsh Frauenheilk 1996; 56: 23-27
114. McGuire WL, Tandon AK, Allred DC, Chamness GC, Clark GM:
How to use prognostic factors in axillary node-negative breast cancer patients.
J Natl Cancer Inst 1990; 82: 1006-1015
115. McGuire WL:
Breast cancer prognostic factors: evaluation guidelines.
J Natl Cancer Inst 1991; 83: 154-155
116. McGuire WL, Clark GM:
Prognostic factors and treatment decisions in axillary-node-negative breast cancer.
N Engl J Med 1992; 326: 1756-1761

117. Meijer-van Gelder ME, Look MP, Peters HA, Schmitt M, Brünner N, Harbeck N, Klijn JG, Foekens JA:
Urokinase-type plasminogen activator system in breast cancer: association with tamoxifen therapy in recurrent disease.
Cancer Res 2004; 64: 4563-4568
118. Meo S, Dittadi R, Peloso L, Gion M:
The prognostic value of vascular endothelial growth factor, urokinase plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in node-negative breast cancer.
Int J Biol Markers 2004; 19: 282-288
119. Nährig J, Högel B, Marlow S, Mayr D, Permanetter W:
Pathologie des Mammakarzinoms.
In: Janni W, Tumorzentrum München (Hrsg.): *Manual Mammakarzinome: Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge*. 11. Aufl.
München: Zuckschwerdt 2007, S. 49-76
120. Offersen BV, Alsner J, Ege Olsen K, Riisbro R, Brünner N, Sørensen FB, Sørensen BS, Schlemmer BO, Overgaard J:
A comparison among HER2, TP53, PAI-1, angiogenesis, and proliferation activity as prognostic variables in tumours from 408 patients diagnosed with early breast cancer.
Acta Oncol 2008; 47: 618-632
121. Palmirotta R, Ferroni P, Savonarola A, Martini F, Ciatti F, Laudisi A, Sini V, Del Monte G, Guadagni F, Roselli M:
Prognostic value of pre-surgical plasma PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1) levels in breast cancer.
Thromb Res 2009; 124: 403-408
122. Pappot H, Gårdsvoll H, Rømer J, Pedersen AN, Grøndahl-Hansen J, Pyke C, Brünner N:
Plasminogen activator inhibitor type 1 in cancer: therapeutic and prognostic implications.
Biol Chem Hoppe-Seyler 1995, 376: 259-267
123. Pedersen AN, Christensen IJ, Stephens RW, Briand P, Mouridsen HT, Danø K, Brünner N:
The complex between urokinase and its type-1 inhibitor in primary breast cancer: Relation to survival.
Cancer Res 2000; 60: 6927-6934

124. Pedersen AN, Mouridsen HT, Tenney DY, Brüner N:
Immunoassays of urokinase (uPA) and its type-1 inhibitor (PAI-1) in detergent extracts of breast cancer tissue.
Eur J Cancer 2003; 39: 899-908
125. Peyrat JP, Vanlemmens L, Fournier J, Huet G, Révillion F, Bonnetterre J:
Prognostic value of p54 and urokinase-type plasminogen activator in nodenegative human breast cancers.
Clin Cancer Res 1998, 4: 189-196
126. Quiet CA, Ferguson DJ, Weichselbaum RR, Hellman S:
Natural history of node-negative breast cancer: a study of 826 patients with long-term follow-up.
J Clin Oncol 1995; 13: 1144-1151
127. Rack B, Eiermann W, Engel J, Euler U, Funke I, Harbeck N, Jückstock J, Permanetter W:
Prognostische und prädiktive Faktoren beim primären Mammakarzinom.
In: Janni W, Tumorzentrum München (Hrsg.): Manual Mammakarzinome: Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge. 11. Aufl.
München: Zuckschwerdt 2007, S. 85-91
128. Ranson M, Tian Z, Andronicos NM, Rizvi S, Allen BJ:
In vitro cytotoxicity of bismuth-213 (213Bi)-labeled-plasminogen activator inhibitor type 2 (alpha-PAI-2) on human breast cancer cells.
Breast Cancer Res Treat 2002; 71: 149-159
129. Reilly D, Christensen L, Duch M, Nolan N, Duffy MJ, Andreassen PA:
Type 1 plasminogen activator inhibitor in human breast carcinomas.
Int J Cancer 1992; 50: 208-214
130. Reuning U, Magdolen V, Wilhelm O, Fischer K, Lutz V, Graeff H, Schmitt M:
Multifunctional potential of the plasminogen activation system in tumor invasion and metastasis (review).
Int J Oncol 1998; 13: 893-906
131. Rha SY, Yang WI, Gong SJ, Kim JJ, Yoo NC, Roh JK, Min JS, Lee KS, Kim BS, Chung HC:
Correlation of tissue and blood plasminogen activation system in breast cancer.
Cancer Lett 2000; 150: 137-145

132. Rifkin DB:
Cross-talk among proteases and matrix in the control of growth factor action.
Fibrinolysis 1997; 11: 3-9
133. RKI 2010a:
Krebs in Deutschland 2005-2006: Häufigkeiten und Trends.
Robert Koch Institut (Hrsg) und Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in
Deutschland e. V. (Hrsg). 7. Aufl., Berlin 2010
[http://www.rki.de/cln_160/nn_203956/DE/Content/GBE/Gesundheitsberichterstattung/
GBEDownloadsB/KID2010,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/KID2010.pdf](http://www.rki.de/cln_160/nn_203956/DE/Content/GBE/Gesundheitsberichterstattung/GBEDownloadsB/KID2010,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/KID2010.pdf)
134. RKI 2010b:
Verbreitung von Krebserkrankungen in Deutschland. Entwicklung der Prävalenzen
zwischen 1990 und 2010.
Robert Koch Institut (Hrsg) und Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in
Deutschland e. V. (Hrsg). 7. Aufl., Berlin 2010
[http://www.rki.de/cln_160/nn_1869836/DE/Content/GBE/Gesundheitsberichterstattung/
GBEDownloadsB/Krebspraevalenz,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/Krebs
praevalenz.pdf](http://www.rki.de/cln_160/nn_1869836/DE/Content/GBE/Gesundheitsberichterstattung/GBEDownloadsB/Krebspraevalenz,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/Krebs
praevalenz.pdf)
135. Rosen PP, Groshen S, Kinne DW, Norton L:
Factors influencing prognosis in node-negative breast carcinoma: analysis of 767
T1N0M0/T2N0M0 patients with long-term follow-up.
J Clin Oncol 1993; 11: 2090-2100
136. Schmidt M, Gehrman M, Hengstler JG, Koelbl H:
New prognostic and predictive factors in breast cancer.
Minerva Ginecol 2010; 62: 599-611
137. Schmitt M, Jänicke F, Graeff H:
Tumor-associated fibrinolysis: the prognostic relevance of plasminogen activator uPA
and tPA in human breast cancer.
Blood Coagulation Fibrinol 1990, 1: 695-702
138. Schmitt M, Jänicke F, Moniwa N, Chucholowski N, Pache L, Graeff H:
Tumor-associated urokinase-type plasminogen activator: Biological and clinical
significance.
Biol Chem Hopp Seyler 1992; 373: 611-622

139. Schmitt M, Harbeck N, Thomssen C, Wilhelm O, Magdolen V, Reuning U, Ulm K, Höfler H, Jänicke F, Graeff H:
Clinical impact of the plasminogen activation system in tumor invasion and metastasis: prognostic relevance and target for therapy.
Thromb Haemost 1997a; 78: 285-296
140. Schmitt M, Thomssen C, Ulm K, Seiderer A, Harbeck N, Höfler H, Jänicke F, Graeff H:
Time-varying prognostic impact of tumour biological factors urokinase (uPA), PAI-1 and steroid hormone receptor status in primary breast cancer.
Br J Cancer 1997b; 76: 306-311
141. Schmitt M, Wilhelm OG, Reuning U, Krüger A, Harbeck N, Lengyel E, Graeff, Gänsbacher B, Kessler H, Bürgle M, Stürzebacher J, Sperl S, Magdolen V:
The urokinase plasminogen activation system as a novel target for tumor therapy.
Fibrinolysis Proteol 2000; 14: 114-132
142. Schmitt M, Mengele K, Napieralski R, Magdolen V, Reuning U, Gkazepis A, Sweep F, Brünner N, Foekens J, Harbeck N:
Clinical utility of level-of-evidence-1 disease forecast cancer biomarkers uPA and its inhibitor PAI-1.
Expert Rev Mol Diagn 2010; 10: 1051-1067
143. Schrohl AS, Holten-Andersen M, Sweep F, Schmitt M, Harbeck N, Foekens J, Brünner N:
Tumor markers: from laboratory to clinical utility.
Mol Cell Proteomics 2003; 2: 378-387
144. Schrohl AS, Holten-Andersen MN, Peters HA, Look MP, Meijer-van Gelder ME, Klijn JG, Brünner N, Foekens JA:
Tumor tissue levels of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 as a prognostic marker in primary breast cancer.
Clin Cancer Res 2004; 10: 2289-2298
145. Shiba E, Kim SJ, Taguchi T, Izukura M, Kobayashi T, Furukawa J, Yayoi E, Shin E, Takatsuka Y, Koyama H, Takai S:
A prospective study on the prognostic significance of urokinase-type plasminogen activator levels in breast cancer tissue.
J Cancer Res Clin Oncol 1997; 123: 555-559

146. Spyrtos F, Bouchet C, Tozlu S, Labroquere M, Vignaud S, Becette V, Lidereau R, Bieche I:
Prognostic value of uPA, PAI-1 and PAI-2 mRNA expression in primary breast cancer.
Anticancer Res 2002; 22: 2997-3003
147. Statistisches Jahrbuch 2010:
Statistisches Bundesamt, Wiesbaden 2010
[http://www.destatis.de/jetspeed/portal/cms/Sites/destatis/SharedContent/Oeffentlich/B3/
Publikation/Jahrbuch/StatistischesJahrbuch,property=file.pdf](http://www.destatis.de/jetspeed/portal/cms/Sites/destatis/SharedContent/Oeffentlich/B3/Publikation/Jahrbuch/StatistischesJahrbuch,property=file.pdf)
148. Streckert I:
Bedeutung von uPA und PAI-1 bei nodal-negativem Mammakarzinom: Korrelation mit dem Tumorstadium, Grading und Manifestationsalter.
Ruhr-Universität Bochum, Dissertation 2009
149. Sumiyoshi K, Baba S, Sakaguchi S, Uarano T, Takada Y, Takada A:
Increase in level of plasminogen activator and type-1 plasminogen activator inhibitor in human breast cancer: Possible roles in tumor progression and metastasis.
Thrombosis Research 1991, 63: 59-71
150. Sweep CG, Geurts-Moespot J, Grebenshikov N, de Witte JH, Heuvel JJ, Schmitt M, Duffy MJ, Jänicke F, Kramer MD, Foekens JA, Brünner N, Brugal G, Pedersen AN, Benraad TJ:
External quality assessment of trans-European multicentre antigen determinations (enzyme-linked immunosorbent assay) of urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its type 1 inhibitor (PAI-1) in human breast cancer tissue extracts.
Br J Cancer 1998; 78: 1434-1441
151. Thomssen C, Oppelt P, Jänicke F, Ulm K, Harbeck N, Höfler H, Kuhn W, Graeff H, Schmitt M:
Identification of low-risk node-negative breast cancer patients by tumor biological factors PAI-1 and cathepsin L.
Anticancer Res 1998; 18: 2173-280
152. Thomssen C, Harbeck N, Dittmer J, Abraha-Spaeth SR, Papendick N, Paradiso A, Lisboa B, Jaenicke F, Schmitt M, Vetter M:
Feasibility of measuring the prognostic factors uPA and PAI-1 in core needle biopsy breast cancer specimens.
J Natl Cancer Inst 2009; 101: 1028-1029

153. Tsuchiya H, Sunayama C, Okada G, Matsuda E, Tomita K, Binder BR:
Plasminogen activator inhibitor-1 accelerates lung metastasis formation of human fibrosarcoma cells.
Anticancer Res 1997; 17: 313-316
154. Umeda T, Eguchi Y, Okino K, Kodama M, Hattori T:
Cellular localization of urokinase-type plasminogen activator, its inhibitors, and their mRNAs in breast cancer tissues.
J Pathol 1997; 183: 388-397
155. Vetter M, Kantelhardt EJ, Annecke K, Dittmer J, Paepke D, Prechtel A, Schmitt M, Jänicke F, Minckwitz G, Kiechle-Bahat GM, Thomssen Ch, Harbeck N:
Invasionsfaktoren uPA/PAI-1 im Tumorgewebe bei Patientinnen mit primärem Mammakarzinom: Von Forschungsergebnissen zur klinischen Anwendung am Beispiel der NNBC 3-Europe-Studie.
Geburtsh Frauenheilk 2007; 67: 1144-1152
156. Webb DJ, Thomas KS, Gonias SL:
Plasminogen activator inhibitor 1 functions as a urokinase response modifier at the level of cell signaling and thereby promotes MCF-7 cell growth.
J Cell Biol 2001; 152: 741-752
157. Wilhelm O, Reuning U, Jänicke F, Schmitt M, Graeff H:
The role of proteases in tumor invasion and metastasis: prognostic impact and therapeutical challenge?
Onkologie 1994, 17: 358-366
158. Witzel ID, Milde-Langosch K, Wirtz RM, Roth C, Ihnen M, Mahner S, Zu Eulenburg C, Jänicke F, Müller V:
Comparison of microarray-based RNA expression with ELISA-based protein determination of HER2, uPA and PAI-1 in tumour tissue of patients with breast cancer and relation to outcome.
J Cancer Res Clin Oncol 2010; 136: 1709-1718
159. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, Dowsett M, Fitzgibbons PL, Hanna WM, Langer A, McShane LM, Paik S, Pegram MD, Perez EA, Press MF, Rhodes A, Sturgeon C, Taube SE, Tubbs R, Vance GHV, Wheeler TM, Hayes DF:
American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer.
Arch Pathol Lab Med 2007; 131: 18-43

-
160. Yamashita J, Ogawa M, Sakai K:
Prognostic significance of three novel biologic factors in a clinical trial of adjuvant therapy for node-negative breast cancer.
Surgery 1995, 117: 601-608
161. Zemzoum I, Kates RE, Ross JS, Dettmar P, Dutta M, Henrichs C, Yurdseven S, Höfler H, Kiechle M, Schmitt M, Harbeck N:
Invasion factors uPA/PAI-1 and HER2 status provide independent and complementary information on patient outcome in node-negative breast cancer.
J Clin Oncol 2003; 21: 1022-1028

8 Danksagung

Herrn Dr. med. S. Philippou, Bochum, bin ich für die Idee und das Thema der Arbeit zu ganz besonderem Dank verpflichtet.

Frau Privatdozentin Dr. med. G. Bonatz, Bochum, und Herrn Prof. Dr. rer. nat. H.-J. Streckert, Witten, danke ich für die Bereitstellung der Daten.

9 Lebenslauf

Personalien

Name und Vorname: Refika Nurdan Sezer
 Anschrift Bebelstrasse 18, 44623 Herne
 Telefon 02323-987 60 88
 e-mail nurdansezer@aol.com
 Geburtsdatum: 12. März 1967
 Geburtsort: Istanbul
 Staatsangehörigkeit: deutsch
 Familienstand: ledig
 Konfession: moslemisch

Schulbildung

1973 – 1977 Grundschule Duisburg-Beeck
 1977 – 1979 Hauptschule Duisburg-Beekerwerth
 1979 – 1984 Gustav-Stresemann Realschule
 1984 – 1987 Leibniz Gymnasium Duisburg Hamborn

Studium

1987 – 1989 Ruhruniversität Bochum
 1989 – 1993 Universität Essen
 1993 – 1994 Evangelisches Krankenhaus Oberhausen, Praktisches Jahr

Ärztliche Ausbildung

Juli 1994 – Dezember 1995 St. Anna Hospital Herne, Ärztin im Praktikum/Gynäkologie
 Jan 1996 – Mai 1996 Prosper Hospital Recklinghausen, Assistenzärztin/
 Gynäkologie
 Juni 1996 – April 2000 Marienhospital Gelsenkirchen, Assistenzärztin/Gynäkologie
 Januar 2000 Facharztprüfung

Ärztliche Laufbahn

Mai 2000 – September 2004 St. Anna Hospital Herne, Fachärztin der Gynäkologie und
 Geburtshilfe
 Juni 2003 – September 2004 Ergänzende Tätigkeit in der Senologie, Dr. Abdallah
 Oktober 2004 – Dezember 2005 Augusta Krankenhaus, Oberärztin Gynäkologie
 Januar 2006 – Juni 2008 Vincenz Krankenhaus Datteln, leitende Oberärztin
 Gynäkologie
 Juli 2008 – September 2008 angestellte Ärztin, Frauenarztpraxis Dr. med Ciesla,
 Oberhausen
 September – Oktober 2008 Vertretungsärztin, Praxis Dr. med. Walensi, Bochum-
 Weitmar
 Seit Oktober 2008 niedergelassene Ärztin in Bochum-Weitmar

10 Anhang

Tab. 11: Prognosefaktoren beim primären Mammakarzinom (AGO 2011)

Prognosefaktoren	LOE (Tab. 13)	GR (Tab. 14)	AGO (Tab. 15)
Tumorgröße	1a	A	++
Lymphknotenstatus	1a	A	++
Vorliegen von Metastasen	1a	B	++
Histologischer Typ (kolloid, muzinös, tubulär etc.)	2b	B	++
Grading (Tumordifferenzierung)	2a	B	++
Alter	2a	B	++
Einbruch in Lymph- und/oder Blutgefäße	2b	B	+
Östrogen- (ER), Progesteron-Rezeptor (PR)	2a	B	++
uPA/PAI-1 (ELISA)	1a	A	+*
Triple-negativer Tumortyp	2b	B	+
HER-2-Status (IHC, FISH)	2b	B	+/-
Nachweis von Tumorzellen im Knochenmark	1a	B	+/-
Zirkulierende Tumorzellen	2b	B	+/-
Marker der Zellteilungsaktivität	2b	B	+/-
Thymidin-Färbung Index	1b	B	+/-
S-Phase Fraktion	2b	B	+/-
Ploidie	2b	B	+/-
Ki-67	1b	B	+
Aktuell verfügbare Gen-/Protein-Tests	2b(-)	D	-*
Computergestützte Entscheidungshilfen (adjuvantonline.com)	2b(-)	D	+
Lebensstil (z. B. regelmäßiger Alkoholkonsum ≥ 6 g/d)	2ba	B	+
BMI > 25 kg/m ²	2ba	B	+

*Studienteilnahme empfohlen

Tab. 12: Prognosefaktoren beim nodal-negativen primären Mammakarzinom (AGO 2011)

Prognosefaktoren	LOE (Tab. 13)	GR (Tab. 14)	AGO (Tab. 15)
Grading (Tumordifferenzierung)	2b	B	++
Tumorgröße	2b	B	+
Alter	2b	B	+
uPA/PAI-1 (ELISA)	1a	A	+*
Proliferation (SPF, TLI, Ki-67)	2b	C	+/-
Oncotype DX™	2b	B	+/-*
MammaPrint™	2b	B	+/-*

*Studienteilnahme empfohlen

Tab. 13: Oxford Levels of Evidence (LOE) (AGO 2010)

LOE	Behandlung/Prävention, Ätiologie/Schaden	Prognose
1a	Systematische Übersicht (mit homogenem Ergebnis) von randomisierten kontrollierten Studien	Systematische Übersicht prospektiver Kohortenstudien (mit homogenem Ergebnis); klinische in verschiedenen Populationen validierte Entscheidungsregel
1b	Individuelle randomisierte kontrollierte Studien (mit schmalen Vertrauensbereich)	Einzelne prospektive Kohortenstudie mit $\geq 80\%$ Nachbeobachtung; klinische in einer einzelnen Population validierte Entscheidungsregel
1c	Alles-oder-Nichts	Alles-oder-Nichts Fallserien
2a	Systematische Übersicht (mit homogenem Ergebnis) von Kohortenstudien	Systematische Übersicht retrospektiver Kohortenstudien (mit homogenem Ergebnis) oder unbehandelter Kontrollgruppen aus randomisierten kontrollierten Studien
2b	Individuelle Kohortenstudie (einschließlich, randomisierte kontrollierte Studien minderer Qualität, z. B. $< 80\%$ Verlaufskontrolle)	Retrospektive Kohortenstudie oder Nachbeobachtung unbehandelter Kontrollpatienten aus randomisierten kontrollierten Studien; Ableitung aus klinischer Entscheidungsregel oder alleinige „split-sample“-Validierung
2c	“Outcome“ Untersuchung; Ökologische Studien	“Outcome“ Untersuchung
3a	Systematische Übersicht (mit homogenem Ergebnis) von Fallkontrollstudien	(nicht definiert)
3b	Individuelle Fallkontrollstudie	(nicht definiert)
4	Fallserien (und Kohorten- und Fallkontrollstudien schlechter Qualität)	Fallserien (und prognostische Kohortenstudien schlechter Qualität)
5	Expertenmeinung ohne explizite kritische Beurteilung oder auf Grundlage von Physiologie, Laborforschung oder „ersten Prinzipien“	Expertenmeinung ohne explizite kritische Einschätzung oder Ergebnisse basierend auf Physiologie, Laborforschung oder „ersten Prinzipien“

Tab. 14: Oxford Grades of Recommendation (GR) (AGO 2010)

GR	Beschreibung
A	konsistente LoE-1-Studien
B	konsistente LoE-2- oder -3-Studien oder Extrapolationen von LoE-1-Studien
C	LoE-4-Studien oder Extrapolationen von LoE-2- oder -3-Studien
D	LoE-5-Evidenz oder widersprüchliche oder nicht schlüssige Studien jeden Evidenzniveaus

Tab. 15: AGO Grades of Recommendation (AGO 2010)

AGO	Beschreibung
++	Diese Untersuchung oder therapeutische Intervention ist für die Patientin von großem Vorteil, kann uneingeschränkt empfohlen werden und sollte durchgeführt werden.
+	Diese Untersuchung oder therapeutische Intervention ist für die Patientin von eingeschränktem Vorteil und kann ausgeführt werden.
+/-	Diese Untersuchung oder therapeutische Intervention hat bisher keinen Vorteil gezeigt und kann in Einzelfällen durchgeführt werden. Nach gegenwärtigem Wissen kann keine eindeutige Empfehlung gegeben werden.
-	Diese Untersuchung oder therapeutische Intervention kann für die Patientin von Nachteil sein und sollte eher nicht durchgeführt werden.
--	Diese Untersuchung oder therapeutische Intervention ist von Nachteil und sollte in jedem Fall vermieden bzw. unterlassen werden.