

**Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Gynäkologie
der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Direktor: Prof. Dr. med. Christoph Thomssen**

**Das immunhistochemische Profil von Mammakarzinomen in
Äthiopien im Vergleich zu anderen Regionen weltweit**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt
der Medizinischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Erdme Knauf
geboren am 09.01.1991 in Freiberg

Gutachter:

1. Prof. Dr. Christoph Thomssen
2. Prof. Dr. Claudia Wickenhauser
3. Prof. Dr. Lars Christian Horn (Leipzig)

10.10.2017

10.09.2018

Meinen Großeltern gewidmet

Referat

In der vorliegenden Arbeit wurde der Hormonrezeptorstatus von Mammakarzinomen in Äthiopien untersucht. Dazu wurden immunhistochemische, pathologische und klinische Daten von insgesamt 337 Fällen retrospektiv aus Patientenakten ausgewertet. Zum Vergleich wurden zusätzlich 31 Fälle immunhistochemisch durch ein Referenzlabor in Deutschland bestimmt (Östrogen- und Progesteronrezeptor, HER2, Ki-67, EGFR und Ck5/6).

In beiden Gruppen zeigten sich ähnliche klinische und pathologische Merkmale. Vor allem jüngere Patientinnen mit hauptsächlich duktalem Grade-2-Karzinom in fortgeschrittenen Tumorstadien und mit involvierten Lymphknoten wurden gefunden. Es konnte gezeigt werden, dass weniger als die Hälfte der Fälle hormonrezeptor-negativ war (38%) und knapp ein Drittel positiv für HER2 (32%). Der Anteil tripel-negativer Tumore lag bei 32%. Die fernmetastasenfreie Überlebensrate betrug 77% nach zwei Jahren. Ein Unterschied zwischen hormonrezeptor-positiven und hormonrezeptor-negativen Patientinnen in Bezug auf das fernmetastasenfreie Überleben konnte nicht ermittelt werden. Tripel-negative Tumore hatten im Vergleich zu den anderen immunhistochemischen Typen das schlechteste Überleben.

Die Ergebnisse dieser Promotion bestätigten das Bild von Mammakarzinomen in ostafrikanischen Ländern aus aktuellen wissenschaftlichen Publikationen. Es konnte geschlossen werden, dass - durch den überwiegenden Anteil hormonrezeptor-positiver Patientinnen in Äthiopien - Tamoxifen eine gute Behandlungsoption darstellt.

Knauf, Erdme: Das immunhistochemische Profil von Mammakarzinomen in Äthiopien im Vergleich zu anderen Regionen weltweit.
Halle (Saale), Univ., Med. Fak., Diss., 61 Seiten, 2017

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Epidemiologische Daten zum Mammakarzinom	1
1.2	Ätiologie des Mammakarzinoms	2
1.3	Ausgewählte Einteilungen des Mammakarzinoms	2
1.3.1	TNM-Klassifikation nach UICC und Staging nach AJCC	2
1.3.2	Histopathologische Klassifikation nach WHO	3
1.3.3	Grading	3
1.3.4	Immunhistochemische Einteilungen	4
1.4	Prognostische und prädiktive Faktoren.....	6
1.5	Versorgungsstrukturen und Therapiestandards in Deutschland.....	7
1.5.1	Maßnahmen der Früherkennung	7
1.5.2	Operative Therapie und adjuvante Radiotherapie.....	8
1.5.3	Systemische adjuvante Therapie	9
1.6	Versorgungsstrukturen und Therapiestandards in Äthiopien.....	10
2	Zielstellung	13
3	Material und Methoden	14
3.1	Patientenkohorten	14
3.2	Immunhistochemische Verfahren	17
3.2.1	Ablauf der immunhistochemischen Färbungen der Kohorte A (Addis Abeba).....	18
3.2.2	Ablauf der immunhistochemischen Färbung der Kohorte B (Düren, Trier).....	20
3.3	Statistische Verfahren.....	21
3.3.1	Einschlusskriterien.....	22
3.3.2	Deskriptive Statistik und Häufigkeitsverteilung.....	22
3.3.3	Bestimmung des Einflusses klinischer und pathologischer Merkmale auf die Wahrscheinlichkeit der Hormonrezeptornegativität	23
3.3.4	Analyse des fernmetastasenfreien Überlebens	23
4	Ergebnisse	25
4.1	Verteilung und Häufigkeiten von Östrogen-, Progesteron- und Hormonrezeptoren in Kohorte A und B	25
4.2	Verteilung des Anteils an ER- und/oder PR-negativen Tumoren in klinischen und pathologischen Gruppen in Kohorte A und B.....	25
4.2.1	Verteilung des Anteils an ER- und/oder PR-negativen Tumoren in klinischen und pathologischen Gruppen in Kohorte A	26
4.2.2	Verteilung des Anteils an ER- und/oder PR-negativen Tumoren in klinischen und pathologischen Gruppen in Kohorte B	28

4.3	Bestimmung des Einflusses klinischer und pathologischer Merkmale auf die Wahrscheinlichkeit für Hormonrezeptornegativität	31
4.4	Erweiterte immunhistochemische Charakterisierung der Kohorte B.....	32
4.5	Analysen des fernmetastasenfreien Überlebens.....	34
4.5.1	Bestimmung des Einflusses klinischer und pathologischer Merkmale auf das fernmetastasenfreie Überleben	34
4.5.2	Analysen des fernmetastasenfreien Überlebens durch Kaplan-Meier-Analysen.....	34
5	Diskussion	39
5.1	Zusammenfassung und Hauptergebnisse.....	39
5.2	Diskussion der Ergebnisse	39
5.2.1	Östrogen-, Progesteron- und Hormonrezeptorstatus	39
5.2.2	Verteilung des Anteils an ER- und/oder PR-negativen Tumoren in klinischen und pathologischen Gruppen in Kohorte A und B	42
5.2.3	Einflussfaktoren auf die Hormonrezeptornegativität	43
5.2.4	HER2-status, immunhistochemische Typen und weitere immunhistochemische Marker	44
5.2.5	Fernmetastasenfreies Überleben.....	46
5.3	Diskussion der Methoden	48
5.3.1	Qualität des zu analysierenden Materials und immunhistochemische Verfahren	48
5.3.2	Retrospektive Erhebung der Daten	49
5.4	Schlussbetrachtung und Ausblick	50
6	Zusammenfassung	52
7	Literaturverzeichnis	53
8	Thesen	61

Selbstständigkeitserklärung

Erklärung über frühere Promotionsversuche

Lebenslauf

Publikationen

Danksagung

Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole

AGO e.V.	Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie e.V.
AA	Addis Abeba
AJCC	American Joint Comittee on Cancer
BET	Brusterhaltende Therapie
BMI	Body Mass Index
BRCA1/2	Breast Cancer ½
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
ChT	Chemotherapie
CISH	Chromogene in-situ Hybridisierung
CK 5/6	Zytokeratin 5/6
CMF	Cyclophosphamid, Methotrexat, 5-Fluorouracil
CT	Computertomographie
DAB	3,3'-Diaminobenzidin
EGFR	Epidermal growth factor receptor
ER	Östrogenrezeptor
ET	Endokrine Therapie
et al.	et alii
etc.	et cetera
FAC	5-Fluorouracil, Adriamycin, Cyclophosphamid
FEC	5-Fluorouracil, Epirubicin und Cyclophosphamid
FFPE	Formalin-fixiert, Paraffin-eingebettet
FISH	Fluoreszenz in-situ Hybridisierung
FNAC	Feinnadelaspiration / Zytologie
GnRH	Gonadotropin releasing hormone
HE	Hämatoxylin-Eosin
HER1	Human epidermal growth factor receptor 1
HER2	Human epidermal growth factor receptor 2
HR	Steroidhormonrezeptoren
IHC	Immunhistochemie
IRS	Immunreaktiver Score
KI	Konfidenzintervall
Ki-67	Proliferationsmarker (Ki = Kiel)
MIB-1	Molecular Immunology Borstel 1
MRM	Modifiziert radikale Mastektomie
MRT	Magnetresonanztomographie
MVZ	Medizinisches Versorgungszentrum
neg.	negativ
o.ä.	oder ähnlich
o.g.	oben genannt
OR	Odds Ratio
PAI-1	Plasminogen-Aktivator-Inhibitor Typ 1
PBS	Phosphat buffered saline
pN+	mit involvierten Lymphknoten
pos.	positiv
PR	Progesteronrezeptor
R0	Resektion in sano
SISH	Silber in-situ Hybridisierung
SLNE	Sentinel-Lymphonodektomie
SPSS	Statistical Package for the Social Siences
Tab.	Tabelle
TNM	Tumorgröße, Nodulärer Befall, Metastasen

Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole

u.a.	unter anderem
UICC	Union for International Cancer Control
uPA	Plasminogen-Aktivator vom Urokinase-Typ
v.a.	vor allem
vs.	versus
WHO	World Health Organization
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil

1 Einleitung

In der vorliegenden Dissertation wurde stellvertretend für weibliche und männliche Patienten stets die weibliche Form „Patientinnen“ genutzt.

1.1 Epidemiologische Daten zum Mammakarzinom

Die meisten wissenschaftlichen Erkenntnisse über das Mammakarzinom stammen aus Europa und Nordamerika. Die Anzahl entsprechender Daten aus oder über Länder mit mittleren und niedrigen Einkommen stieg in den letzten Jahren zwar an, ist aber immer noch vergleichsweise gering (Kantelhardt et al. 2015).

Mit ca. 1,7 Millionen Neuerkrankungen an Brustkrebs im Jahr 2012 ist es die häufigste Krebserkrankung bei Frauen weltweit und spiegelt damit 25% aller Krebsarten wider (GLOBOCAN Cancer Fact Sheets: Breast cancer). Frauen in westlich geprägten sogenannten „Industrieländern“ erkranken am häufigsten im Alter von 60 bis 64 Jahren (Engel et al. 2010). In afrikanischen Ländern liegt das durchschnittliche Diagnosealter zwischen 43 und 52 Jahren (Bhikoo et al. 2011). Dies ist u.a. der jüngeren Bevölkerungsstruktur in diesen Ländern geschuldet.

Dabei variieren die epidemiologischen Daten je nach geographischer Region weltweit sehr stark. Obwohl die Prävalenz in „stärker entwickelten Ländern“ bis vor wenigen Jahren noch generell als höher angegeben wurde, registrierte man im Jahr 2012 794.000 Fälle für diese Regionen, aber 883.000 für „weniger stark entwickelte Länder“ (Ferlay et al. 2015; Torre et al. 2015).

Eine ähnliche Tendenz konnte in den vergangenen Jahren im Falle der Inzidenzraten beobachtet werden. Obwohl diese in Ländern mit geringem Einkommen derzeit noch niedriger liegen als in westlichen „Industrienationen“, nahmen sie ebenfalls in letzter Zeit stark zu. Die Gründe dafür sind nicht vollständig aufgeklärt. Sie hängen aber möglicherweise mit steigenden Lebenserwartungen und dem damit verbundenem Bevölkerungswachstum sowie mit der Angleichung an westliche Lebensweisen (geringere Anzahl an Kindern, späteres Gebären, kalorienreiche Ernährung, geringe sportliche Aktivität, etc.) zusammen. Bemerkenswert ist ebenfalls, dass trotz geringerer Inzidenzrate die Mortalitätsrate in ärmeren Regionen sehr hoch und vor allem höher als in wohlhabenderen Ländern ist. Ursachen dafür sind wahrscheinlich ein in der Bevölkerung nur unzureichend verbreitetes Bewusstsein für dieses Krankheitsbild (Rizwan und Saadullah 2009) sowie der eingeschränkte Zugang zu Früherkennungsmaßnahmen und optimalen Behandlungsmöglichkeiten (Jemal et al. 2010).

1.2 Ätiologie des Mammakarzinoms

Beim Mammakarzinom wird üblicherweise zwischen einer spontanen (90 bis 95% der Fälle) und einer hereditären Form unterschieden. Neben einer erblichen Komponente gibt es also ebenfalls verschiedene Umweltfaktoren, die für ein erhöhtes Brustkrebsrisiko verantwortlich zu sein scheinen. Zu diesen gehören (Hanf und Körner 2010):

- Bestimmte Medikamente und extern zugeführte Hormone (z.B. Hormontherapie postmenopausaler Beschwerden)
- Frühe Menarche
- Späte Menopause
- Späte erste Schwangerschaft
- Nulliparität
- Radioaktive Strahlung
- Zugehörigkeit zu höheren sozioökonomischen Klassen (längere Ausbildungszeit und konsekutiv spätere erste Schwangerschaft)
- Westliche Lebensweise (wenig Bewegung, falsche Essgewohnheiten, z.B. hoher Konsum tierischer Fette)

Schon bei der Aufzählung dieser Risikofaktoren wird deutlich, dass Östrogene und Gestagene bei fast allen dieser Punkte eine besondere Rolle spielen. Dabei steigert ein längerer Einfluss von Östrogen auf das undifferenzierte Brustdrüsenparenchym das Risiko, an Brustkrebs zu erkranken. Durch Schwangerschaft und Stillzeit kommt es zu einer bemerkenswerten Senkung des Erkrankungsrisikos und auch das Alter zur Zeit der Schwangerschaft hat einen Einfluss (Clemons und Goss 2001; Thomssen 2005). Nicht nur das generelle Erkrankungsrisiko wird hierdurch verändert, sondern auch das Auftreten der einzelnen immunhistochemischen Typen (siehe 1.3.4): So konnte gezeigt werden, dass Parität, jüngeres Alter zur ersten Schwangerschaft und Stillen ein geringeres Risiko für hormonrezeptorpositive Mammakarzinome bedingten. Letzteres verringerte dabei außerdem die Wahrscheinlichkeit für tripel-negativen Brustkrebs (Lambertini et al. 2016).

1.3 Ausgewählte Einteilungen des Mammakarzinoms

1.3.1 TNM-Klassifikation nach UICC und Staging nach AJCC

Entsprechend der S3-Leitlinie für Brustkrebs sollten alle Patientinnen hinsichtlich der Tumorausbreitung zunächst vollständig klinisch untersucht und auch anhand von bildgebenden Verfahren nach dem TNM-System der UICC (Union for international Cancer Control) klassifiziert werden (Kreienberg et al. 2013). Anhand der

Resektionsergebnisse kann durch den Pathologen daraufhin die pathologische TNM-Klassifikation erfolgen. Dabei beschreibt T die Tumorgröße des invasiven Primärtumors in cm, N den Status der regionären Lymphknoten und M das Vorliegen von Fernmetastasen. Aus der TNM-Klassifikation kann das Staging nach den Vorgaben des AJCC (American Joint Committee on Cancer) festgelegt werden. Beides macht eine bessere Prognoseabschätzung für die Patientinnen möglich und erleichtert die Therapieentscheidung.

1.3.2 Histopathologische Klassifikation der World Health Organization (WHO)

Die WHO-Klassifikation stellt den morphologischen Phänotypus der Gewebe in den Vordergrund und unterteilt in invasive und nicht-invasive Mammakarzinome. Insgesamt gibt es 22 invasive Typen, von denen der Hauptteil durch das invasive Karzinom „no special type“ (früher: „invasiv duktal“) mit 40 bis 75% aller Karzinome gebildet wird. Es folgt das invasiv-lobuläre Karzinom, welches ca 10 bis 15% der invasiven Mammakarzinome ausbilden. Alle anderen Formen kommen seltener vor (Lebeau und Mitze 2010).

1.3.3 Grading

Bei allen invasiven Karzinomen sollte neben der histopathologischen Typisierung auch ein Grading durchgeführt werden (Kreienberg et al. 2013). Es dient der Einschätzung des Malignitäts- und Differenzierungsgrades und stellt somit einen wichtigen prognostischen Faktor dar. Heutzutage wird das durch Elston und Ellis modifizierte Grading-System von Bloom und Richardson genutzt. Es hat sich wegen seiner guten Reproduzierbarkeit als brauchbar bewiesen und basiert auf einer Scoresumme, die aus Punktwerten folgender drei Kategorien errechnet wird: Tubulusbildung, Kernpleomorphie und Mitoserate. Für die Zuordnung der Scorewerte ist die Berücksichtigung der individuellen Gesichtsfeldgröße des Mikroskops erforderlich. Somit werden die Karzinome eingeteilt in G1 (gut differenziert), G2 (mäßig differenziert) und G3 (schlecht differenziert). Patientinnen mit G1-Tumoren haben dabei eine signifikant bessere Überlebenschance als G2- und G3-Patientinnen (Elston und Ellis 1991).

Neben der prognostischen Aussagekraft spielt das Grading auch als prädiktiver Marker für das Ansprechen auf eine Chemotherapie eine Rolle, da G3-Tumoren erfahrungsgemäß besser auf eine adjuvante und neoadjuvante Therapie ansprechen als G1-Tumoren (Lebeau und Mitze 2010).

1.3.4 Immunhistochemische Einteilungen

Normale Gewebszellen und Tumorzellen können Rezeptoren ausbilden, die sie sensibel für bestimmte Botenstoffe machen. Über diese kann das Mammakarzinom immunhistochemisch klassifiziert werden. Eine Auswahl, der für diese Arbeit wichtigen Marker soll hier vorgestellt werden.

Steroidhormonrezeptoren (HR): Östrogen(ER)- und Progesteron(PR)-rezeptoren

Die Expression von ER und PR hat als prädiktive Marker eine hohe klinische Relevanz. Der HR-status gilt als positiv, wenn mindestens 1% der Zellen immunhistochemisch nachweislich ER und/oder PR ausbilden. Die Analyse erfolgt semiquantitativ und nutzt entweder den in Deutschland üblichen Remmele-Stegner-Score (IRS, Immunreaktiver Score) oder den Allred-Score (Kantelhardt et al. 2012). Beim erstgenannten wird mittels des Produktes aus den Punktwerten der Anzahl gefärbter Zellen und deren Färbeintensität eine Aussage getroffen (Remmele und Stegner 1987), bei dem zweiten erfolgt dies über die Summe (Harvey et al. 1999).

Tab. 1: Semiquantitative Methode nach Remmele und Stegner (MVZ für Histologie, Zytologie und Molekulare Diagnostik)

Färbeintensität	
- Keine Färbung nachweisbar	0
- Geringe Färbeintensität der Kerne	1
- Mäßige Färbeintensität der Kerne	2
- Starke Färbeintensität der Kerne	3
Anzahl positiver Zellen	
- Keine positiven Kerne nachweisbar	0
- < 10% positive Zellen (Kernfärbung)	1
- 10 – 50% positive Zellen (Kernfärbung)	2
- 51 – 80% positive Zellen (Kernfärbung)	3
- > 80% positive Zellen	4
Bewertung: Score = Färbeintensität x Anzahl positiver Zellen	
- Negativ	0-2
- Positiv	3-12

Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)

Der humane epidermale Wachstumsfaktorrezeptor 2 (HER2) gilt heute als wichtiger prognostischer und prädiktiver Marker. Seine Bestimmung wird somit im Rahmen der Primärdiagnostik empfohlen und eine Einteilung des Mammakarzinoms in HER2-positiv bzw. –negativ ist sinnvoll. Die Bestimmung kann entweder durch immunhistochemische Analysen mittels standardisierter Testkits oder durch in-situ Hybridisierung (FISH, CISH, SISH o.ä.) durchgeführt werden.

Bei der immunhistochemischen Analyse liegt ein positives Ergebnis (und damit ein zu erwartender Nutzen einer Trastuzumab-Therapie) vor, wenn eine immunhistochemisch nachgewiesene Überexpression in mehr als 10% der invasiven Tumorzellen bei vollständiger Färbung gefunden werden konnte (Wolff et al. 2013).

Ki-67

Auch die Frage nach einer erhöhten Expression von Ki-67 ist für die Einteilung der Karzinome von Bedeutung. Ki-67 gilt als Proliferationsfaktor und wird vor allem in Zellen mit hoher Teilungsaktivität exprimiert. Damit zeigt es neben prognostischer Relevanz auch eine prädiktive Bedeutung, da stark proliferierende Tumoren besser auf adjuvante Chemotherapien ansprechen, als niedrig-proliferierende. Nachgewiesen wird er mit Hilfe des Antikörpers MIB-1, jedoch ist ein konkreter Schwellenwert für prognostische und therapeutische Entscheidungen noch nicht gefunden. Es gibt gegenwärtig noch recht unterschiedlich hohe Werte für die einzelnen Fragestellungen. Aktuelle Empfehlungen orientieren darauf, dass nur Werte unter 10% und über 20% verwendet werden sollten, da der Bereich dazwischen durch methodische Unsicherheiten als nicht unproblematisch einzuschätzen ist (Kantelhardt et al. 2012).

Immunhistochemische Einteilung des Mammakarzinoms

Ausgehend von den Genexpressionprofilen und Clusteranalysen von Perou et al. im Jahr 2000 konnten verschiedene molekulare Typen des Mammakarzinoms bestimmt werden: Luminal A, Luminal B, HER-2, basaler Typ und „normales Brustgewebe“ (Perou et al. 2000; Sørlie et al. 2001). Sie unterscheiden sich deutlich in ihrer Tumorbilogie, ihrem Metastasierungsmuster, Therapieverhalten und ihren Prognosen (Parker et al. 2009). Häufig genannte Beispiele sind die höhere Aggressivität, die erhöhte Fernmetastasenrate, die schlechtere Überlebenschancen nach Rezidiv und so die insgesamt prognostisch schlechten Eigenschaften des basalen Typs (Sørlie et al. 2003).

Ausgehend von dieser molekularen Einteilung des Mammakarzinoms konnten immunhistochemische Typen eingeteilt werden. Sie basieren auf den Rezeptorexpressionsprofilen des Gewebes. Eine Übersicht über diese Einteilung findet sich unter 1.5.2. In der Gruppe der tripel-negativen Mammakarzinome weist die Mehrzahl der Karzinome die molekularen Eigenschaften des basalen Typs auf. Eine synonyme Verwendung ist dennoch kritisch zu betrachten, da bei ca. 15 – 45% des basalen Typs auch Steroidhormonrezeptoren bzw. HER2 auftreten. Andersherum können bei den tripel-negativen Karzinomen in 16 – 44% der Fälle die basalen Marker (u.a. Ck 5/6, EGFR) fehlen (Rakha et al. 2009; Goldhirsch et al. 2011).

Epidermal growth factor receptor (EGFR) und Zytokeratin 5/6 (CK 5/6)

Darum ist es durchaus sinnvoll, zwei weitere immunhistochemische Marker zur Identifizierung des basal-likes Typs unter den tripel-negativen Mammakarzinomen zu bestimmen. Zumal diese Gruppe anscheinend den Hauptanteil des negativen prognostischen Einflusses der tripel-negativen Mammakarzinome ausmacht. Unter Verwendung der von Niehlsen et al. publizierten "5-Marker-Methode" (HR-, HER2-negativ, CK 5/6- und/oder EGFR-positiv) konnten so die basalen Typen unter den tripel-negativen Mammakarzinomen identifiziert und Unterschiede im Gesamtüberleben festgehalten werden (Nielsen et al. 2004; Cheang et al. 2008; Rakha et al. 2009).

Der Epidermal growth factor receptor (EGFR oder auch HER1) ist Teil einer Familie von Tyrosinkinase-Rezeptoren (ErbB-Rezeptortyrosinkinasen), zu denen ebenfalls HER2 gehört. Nicht nur HER2, sondern auch EGFR stehen beim Thema Brustkrebs in Zusammenhang mit einem aggressivem Verlauf und ungünstiger Prognose der Erkrankung. Mutierte und dadurch autokrin-daueraktivierte EGF-Rezeptoren führen zu einer verstärkten Proliferation und Apoptoseverhinderung in Tumorzellen, zur Induktion von Angiogenese und zur Ausbildung von Metastasen (Holbro et al. 2003).

Zytokeratine sind Intermediärfilamente, die durch ihre Expression in verschiedenen Epithelzellen Aussagen über die Art der Epithelzellen, den Zustand des Gewebewachstums und seinen Differenzierungsgrad sowie seine Funktionalität zulassen. Auch zur Unterscheidung verschiedener Tumorzellen können sie herangezogen werden. In Brustkrebsgewebe wird CK 5/6 hauptsächlich von myoepithelialen Zellen exprimiert.

1.4 Prognostische und prädiktive Faktoren

Prognostische und prädiktive Faktoren helfen, eine auf die individuellen Eigenschaften der Patientin und deren jeweilige Erkrankungssituation „maßgeschneiderte“ Therapie festzulegen (Kantelhardt et al. 2012).

Entsprechend der aktuellen Leitlinien der Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie e.V. (AGO e.V.) gehören zu den am besten untersuchten Prognosefaktoren: Alter, pTNM-Status (siehe 1.3.1), Resektionsrand, histologischer Typ (siehe 1.3.2), Grading (siehe 1.3.3) und ER- bzw. PR-Status (siehe 1.3.4). Auch Gefäßinvasion, das Vorliegen des Proliferationsmarkers Ki-67 (siehe 1.3.4) oder des Invasionsfaktors uPA/PAI-1 (uPA: Plasminogen-Aktivator vom Urokinase-Typ, PAI-1: Plasminogen-Aktivator-Inhibitor Typ 1), die Diagnose eines tripel-negativen Tumortyps sowie ein entsprechender Lebensstil (z.B. regelmäßiger Alkoholkonsum von mindestens 6g/d)

und ein BMI größer als 25 kg/m² werden als Prognosefaktoren empfohlen (AGO e.V. 2012).

Die alleinige prognostische Aussagekraft des HR- und HER2-status scheint eher gering zu sein. ER-positive und –negative Patientinnen haben die gleiche 10-Jahresrezidivrate (Kantelhardt et al. 2012), allerdings entwickeln Patientinnen ohne HR-expression zeitiger Rezidive, sind aber im Gegensatz zu den HR-positiven nach einer rezidivfreien Zeit von 2 Jahren, insgesamt weniger rezidivgefährdet (Schmitt et al. 1997).

Der HER2-status als Prognosefaktor wird noch diskutiert: Es gibt Studien, die für HER2-positive Tumoren durch deren aggressiveren Wachstums eine ungünstigere Prognose voraussagen (Slamon et al. 1989; Gonzalez-Angulo et al. 2009). Dies könnte aber auch der mehrheitlichen Unempfindlichkeit oder Resistenz dieser Tumoren gegenüber vielen Therapien geschuldet sein (Pegram et al. 1998; Meng et al. 2015). Eine eigenständige, unabhängige prognostische Bedeutung ist daher noch umstritten. Ein Überlebensnachteil der tripel-negativen Gruppe der Mammakarzinome gegenüber den nicht-tripel-negativen konnte in zahlreichen epidemiologischen Studien gezeigt werden und verhält sich ähnlich wie HR-negativ zu HR-positiv: höheres Fernrezidivrisiko v.a. innerhalb der ersten drei Jahre nach initialer Therapie, höhere Mortalität v.a. in den ersten 5 Jahren nach Erstdiagnose, kürzeres medianes Überleben nach Rezidiv, aber auch 50% Risikoreduktion für Spätrezidive (> 5 Jahre nach Erstdiagnose) für tripel-negative im Vergleich zu nicht-tripel-negativen Mammakarzinomen (Kandel et al. 2006; Dent et al. 2007).

1.5. Versorgungsstrukturen und Therapiestandards in Deutschland

1.5.1 Maßnahmen der Früherkennung

Zu den Maßnahmen der Brustkrebsfrüherkennung in Deutschland gehören neben der Aufklärung über die Risikofaktoren die für Frauen ab dem 30. Lebensjahr einmal jährliche klinische Brustuntersuchung sowie das im Abstand von zwei Jahren durchzuführende Mammographiescreening für Frauen zwischen dem 50. und 70. Lebensjahr. Frauen mit einem erhöhten genetischen Risiko haben Anspruch auf eine intensiviertere Früherkennung.

1.5.2 Operative Therapie und adjuvante Radiotherapie

Laut der S3-Leitlinie des Jahres 2012 wird für alle lokoregional begrenzten Mammakarzinome zunächst die Tumoresektion in sano (R0-Resektion) empfohlen. Brusterhaltende Therapie (BET) mit anschließender Bestrahlung der gesamten Brust und modifiziert radikale Mastektomie (MRM) sind dabei im Hinblick auf das Überleben gleichwertig (Kreienberg et al. 2013). Noch nicht in der Leitlinie verankert, aber auf der St.-Gallen-Konsensus-Konferenz 2015 mehrheitlich befürwortet, wurde der Vorschlag, dass sogar in Fällen der Multizentrität und Multifokalität die BET als operativer Goldstandard zu bewerten ist, wenn R0-Resektion und anschließende Strahlentherapie gewährleistet werden können (Gnant et al. 2015). Trotzdem gibt es immer noch Kriterien, die eine MRM empfehlen (z.B. inflammatorisches Mammakarzinom, diffuse ausgedehnte Kalzifikation vom malignen Typ, etc.). Auch hier ist eine anschließende plastische Rekonstruktion der Brust möglich und eine Radiotherapie angebracht.

Bei lokal fortgeschrittenen Karzinomen wird eine primäre (neoadjuvante) Systemtherapie zum Erreichen der Operabilität gefolgt von Operation und postoperativer Bestrahlung empfohlen. Eine neoadjuvante Strahlentherapie sollte simultan zur neoadjuvanten Systemtherapie angeboten werden, falls diese keine Erfolge zeigt (Kreienberg et al. 2013).

Um den Nodalstatus zu bestimmen, ist es Standard im Zuge des operativen Eingriffs auch eine Sentinellymphknotenentfernung (SLNE) durchzuführen. Eine Axilladissektion ist nur in begrenzten Fällen anzustreben (AGO e.V. 2012).

1.5.3 Systemische adjuvante Therapie

Die medikamentöse Therapie hängt von den verschiedenen Eigenschaften und dem immunhistochemischen Typ des Mammakarzinoms ab. Man unterscheidet endokrine, Anti-HER2- und Chemotherapie. Einen Überblick über die einzelnen Phänotypen und Therapieoptionen liefert Tabelle 2.

Tab. 2: Immunhistochemisch definierte Typen des Mammakarzinoms und entsprechende Therapieempfehlungen nach St. Gallen 2011 (Harbeck 2012; Gnant et al. 2015; Kuntzsch et al. 2012)

Luminal A	Luminal B HER2-negativ	Luminal B HER2-positiv	HER2-positiv	Tripel-negativ
ER-pos. und/oder PR- pos.	ER-pos. und/oder PR- pos.	ER-pos. und/oder PR- pos.	ER-neg. und PR-neg.	ER-neg. und PR-neg.
HER2-neg.	HER2-neg.	HER2-pos.	HER2-pos.	HER2-neg.
Ki-67 niedrig (<14%) (Gnant et al. 2015): <20-29%)	Ki-67 erhöht (>14%) (Gnant et al. 2015): >20-29%	jedes Ki-67	jedes Ki-67	jedes Ki67
G1, G2	G1,G2,G3	G1, G2, G3	G1, G2, G3	G1, G2, G3
ET	ET und ChT (Gnant et al. 2015: ChT nur bei hohem Risiko)	ET und ChT und Anti- HER2- Therapie	ChT und Anti- HER2- Therapie	ChT

(ER – Östrogenrezeptor, PR – Progesteronrezeptor, HER2- Human epidermal growth factor receptor 2, Ki-67 – Kiel 67, G1-3 – Grade 1-3, ET – Endokrine Therapie, ChT – Chemotherapie, pos. – positiv, neg. - negativ)

Der Zeitpunkt des Therapiebeginns kann dabei vor oder nach der Operation liegen. In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass durch eine gut kalkulierte systemische Therapie die Rezidivrate und die Mortalität gesenkt werden konnten (Ferguson et al. 2007; Peto et al. 2012).

Eine Indikation für eine endokrine Therapie ist nur dann sinnvoll, wenn die Patientin auch positiv für ER und/oder PR getestet wurde. Für prämenopausale Frauen ist dafür Tamoxifen (über 5 Jahre, häufig in Kombination mit GnRH-Analoga), für postmenopausale Frauen ebenso, bzw. bei postmenopausalen Patientinnen mit ungünstigeren Prognosefaktoren Aromatasehemmer der 3. Generation (über 5 Jahre) vorgesehen. Es können aber auch kombinierte Therapieschemata beider Präparate angewendet werden (Gnant et al. 2015).

Der positive Einfluss des Tamoxifen auf den Krankheitsverlauf konnte bereits in Studien aus den 1980er/1990er Jahren gezeigt werden: Lokal- und Fernrezidivrisikoreduktion, sowie Verbesserung des Gesamtüberlebens bei

vergleichsweise geringer Nebenwirkungsrate (Fisher und Redmond 1992; Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG) 2005).

Die adjuvante Chemotherapie sollte ein Taxan (Paclitaxel, Docetaxel) und Anthrazykline (Doxorubicin, Epirubicin) enthalten und für eine Dauer von 18 bis 24 Wochen durchgeführt werden. Heutzutage werden die FEC-Kombination (5-Fluorouracil, Epirubicin und Cyclophosphamid) oder die FAC-Kombination (5-Fluorouracil, Adriamycin, Cyclophosphamid) als gängige Therapieschemata empfohlen. Die Anti-Her2-Therapie mit Trastuzumab bietet für Patientinnen mit HER2-Überexpression und einer Tumorgröße über 1 cm Vorteile. Es ist ein monoklonaler Antikörper, welcher an HER2-Rezeptoren bindet und dadurch die intrazelluläre Signalweiterleitung verhindert. Auch wenn der Tumor kleiner ist, aber eine Indikation für eine Chemotherapie vorliegt, sollte es verabreicht werden. (Kreienberg et al. 2013).

Um einem ganzheitlichen Therapiekonzept in Deutschland gerecht zu werden, spielt natürlich auch die psychoonkologische Betreuung eine wesentliche Rolle.

1.6 Versorgungsstrukturen und Therapiestandards in Äthiopien

Das Land Äthiopien gehört trotz seiner interessanten Geschichte und den kulturellen Besonderheiten zu den ärmeren Regionen unseres Planeten. Mit Rang 173 von 187 ist es eines der Schlusslichter der Human-Development-Index-Rangliste (United Nations Development Programme). Mehrere Hungersnöte in den 1970er und 1980er Jahren, fehlende Infrastruktur, schlechte Bildung der jungen Generationen (vor allem in den ländlichen Gebieten) und eine schlechte Situation auf dem Arbeitsmarkt sind Aspekte, die das Leben der äthiopischen Bevölkerung erschweren.

Insgesamt gibt es 122 öffentliche und 50 private Krankenhäuser im Land. Der ärztliche Verteilungsschlüssel liegt bei 0,4 Ärzten pro 10.000 Einwohner (Kantelhardt et al. 2014a). Wie in vielen Ländern mit niedrigen Einkommen galt die Hauptaufmerksamkeit des öffentlichen Gesundheitssystems und vieler Hilfsorganisationen lange Zeit den Infektionskrankheiten. Maligne Neoplasien wurden demgegenüber vernachlässigt (Seife T et al. 2012). Darum ist es nicht verwunderlich, dass es in ganz Äthiopien trotz einer Krebspatientenzahl von mehr als 2000 im Jahr 2010 lediglich ein einziges Krebszentrum in der Hauptstadt Addis Abeba gibt. Von den insgesamt 600 Betten des Universitätskrankenhauses sind 18 für Krebspatientinnen reserviert. Bei einer Gesamtzahl von 201 angestellten Ärzten gibt es nur zwei Hämatologen, vier klinische und zwei chirurgische Onkologen, vier Strahlentherapeuten und einen Kinderonkologen. Auch das Personal für die Palliativversorgung ist unzureichend. Hinzu kommen technische Engpässe mit nur einem CT- und einem MRT-Gerät sowie

einem Cobalt-60-Gerät zur Strahlentherapie, welches durch die Überlastung häufig ausfällt und so nur mit Unterbrechungen verfügbar ist. Die Wartezeit für eine onkologische Behandlung beträgt durchschnittlich sechs Monate. Private Termine sind eher möglich, allerdings für den Durchschnitt der Bevölkerung nicht erschwinglich (Woldeamanuel et al. 2013). Für mittellose Menschen gibt es die Möglichkeit, sich vom Einwohnermeldeamt ein Dokument ausstellen zu lassen, welches ihnen eine kostenfreie Behandlung – allerdings mit langen Wartezeiten - ermöglicht (Kantelhardt et al. 2014a).

Viele Patientinnen stellen sich erst in fortgeschrittenen Stadien bei Schulmedizinern vor. Dies liegt einerseits daran, dass ein umfassendes Bewusstsein für die Erkrankung, sowie der Zugang zu Screeningprogrammen und weitergehenden Aufklärungsinformationen kaum vorliegen (Birhane et al. 2015). Andererseits bevorzugen vor allem die Menschen aus ländlichen Regionen traditionelle Heiler, da sie dem öffentlichen Gesundheitssystem wenig Vertrauen schenken (Anderson 2014). Nach einer Studie aus dem Jahr 2014 von Kantelhardt et al. entspricht die Versorgung der Brustkrebspatientinnen trotz all dieser Widrigkeiten zum großen Teil den Vorgaben der Breast Cancer Global Initiative 2005 für Länder mit begrenzten Ressourcen (Anderson et al. 2006). In dieser retrospektiven Studie wurden die Patientenakten von 1070 Brustkrebspatientinnen für den Zeitraum von 2006 bis 2010 des Universitätskrankenhauses in Addis Abeba ausgewertet. Es zeigte sich, dass fast alle Patientinnen eine operative Versorgung erhielten. In der Mehrheit der Fälle wurde eine modifizierte radikale Mastektomie durchgeführt. Brustkrebschirurgie wird dabei in vielen Städten Äthiopiens von Allgemeinchirurgen durchgeführt. 80% der Patientinnen bekamen anschließend eine Anthrazyklin-haltige Chemotherapie (am häufigsten nach dem FAC-Protokoll, ansonsten auch Anthrazyklin und Cyclophosphamid und zu einem geringen Teil auch CMF-Schema). 83,7% dieser Patientinnen erhielten dabei volle sechs Zyklen. Taxane waren aber nicht enthalten. Im Rahmen des Hilfsprojektes „Ethiopian Breast Cancer Project“ wurden alle HR-positiven und Patientinnen mit unbekanntem Status kostenfrei mit Tamoxifen behandelt (Kantelhardt et al. 2014a).

Äthiopien und viele andere sogenannte „Entwicklungsländer“ werden sich in den nächsten Jahren großen Herausforderungen bei der Prävention, Diagnostik und Behandlung von Brustkrebs stellen müssen. Eine umfassende Einschätzung und Charakterisierung der zukünftigen Belastung sowie eine realistische Beschreibung bereits existierender präventiver, kurativer und palliativer Versorgungsstrukturen wären dafür der erste Schritt. Dafür braucht man auch ein gut funktionierendes

Registrierungssystem. Erst danach können gezielte Interventionen und Programme im sogenannten „low-resource setting“ geplant werden (Woldeamanuel et al. 2013).

Die Daten und Ergebnisse meiner Dissertation sollen langfristig einen Beitrag zur verbesserten Patientenversorgung in Äthiopien leisten und lieferten einen Beitrag zur ersten Studie, welche den Hormonrezeptorstatus von Mammakarzinomen in Äthiopien – einem Land mit medizinisch gesehen eingeschränkten Ressourcen – untersuchte (Kantelhardt et al. 2014b).

2 Zielstellung

Das Mammakarzinom als häufigste Krebserkrankung und häufigste malignom-bedingte Todesursache der Frau ist nach wie vor eine schwerwiegende Erkrankung weltweit (GLOBOCAN Cancer Fact Sheets: Breast cancer). Mit der Einführung der endokrinen Therapie für HR-positive Patientinnen wurde ein Therapieverfahren entdeckt, welches die Mortalitäts- und Rezidivraten von Brustkrebs erheblich senken konnte (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG) 2005) und welches im Vergleich mit anderen medikamentösen systemischen Behandlungsverfahren ein relativ geringes Nebenwirkungsspektrum sowie einen relativ geringen Kostenaufwand aufweist (Rote Liste Service GmbH).

In Äthiopien ist der HR-status der Mehrzahl der Brustkrebspatientinnen unbekannt. Eine Auswertung über die Verteilung der HR-positiven Brustkrebsfälle und die damit verbundenen endokrinen Therapiemöglichkeiten ist somit von besonderer Bedeutung für die medizinische Versorgung der äthiopischen Patientinnen.

Diese Promotion ist ein Beitrag zur ersten Studie, welche das immunhistochemische Profil von Mammakarzinomen in Äthiopien untersuchte (Kantelhardt et al. 2014b). Dazu wurden die Daten von insgesamt 337 Brustkrebspatientinnen des Addis-Abeba-Universitätskrankenhauses retrospektiv aus den dortigen Krankenakten ausgewertet. Zusätzlich fand eine Analyse ausgewählter Fälle in einem deutschen Referenzlabor statt. Ziele der hier vorgestellten Untersuchung waren:

- Die Erfassung der Verteilung des Anteils an ER- und/oder PR-negativen Tumoren bei Mammakarzinompatientinnen in Äthiopien
- Die Erfassung der Verteilung des Anteils an ER- und/oder PR-negativen Tumoren bei Mammakarzinompatientinnen in Äthiopien in klinischen und pathologischen Gruppen
- Die Bestimmung des Einflusses klinischer und pathologischer Merkmale auf die Wahrscheinlichkeit für die ER/PR-negativität
- Die Erhebung weiterer immunhistochemischer Marker (HER2, Ki-67, EGFR, CK 5/6) für einen Hinweis auf die Verteilung immunhistochemischer Typen bei äthiopischen Frauen mit Mammakarzinom
- Die Darstellung des fernmetastasenfreien Überlebens und ihr Vergleich bei HR-positivität und –negativität. HR-positive Patientinnen hatten die Option zur Einnahme von Tamoxifen.

3 Material und Methoden

3.1 Patientenkohorten

Untersucht wurden zwei Kohorten von Mammakarzinompatientinnen, deren Daten auf verschiedene Weise zusammengetragen wurden. Ein positives Ethikvotum für die Untersuchung wurde vom Ethikkomitee der medizinischen Fakultät des Universitätskrankenhauses in Addis Abeba, Äthiopien eingeholt.

Die Hauptkohorte A bestand aus Daten von 337 Patientinnen von Februar 2004 bis September 2013, für welche die klinischen, pathologischen und immunhistochemischen Befunde aus den Patientenakten des Instituts für Pathologie und des Krebsregisters des Universitätskrankenhauses in Addis Abeba dokumentiert werden konnten. Analysen zum fernmetastasenfreien Überleben konnten in 269 Fällen durchgeführt werden.

Die Angaben stammten einerseits aus der Datensammlung der retrospektiven Studie zur Erfassung aller Brustkrebsneudiagnosen des oben genannten Krankenhauses (Kantelhardt et al. 2014a) sowie zur Weiterführung dieser Datensammlung aus Daten, welche während meines Aufenthalts am Universitätskrankenhaus in Addis Abeba im Frühjahr 2014 erhoben wurden.

Zur Überprüfung der lokal in Addis Abeba erhobenen Befunde und für die Bestimmung weiterer Marker wurde eine Kohorte B zusammengetragen. Dazu wurden FFPE-Blöcke aus Addis Abeba nach Deutschland gebracht und dort in einem zertifizierten Referenzlabor untersucht. In diese Kohorte wurden 31 Patientinnen einbezogen, welche im Zeitraum März 2005 bis Januar 2010 am Universitätskrankenhaus Addis Abeba behandelt wurden und zu denen Tumorblöcke durch Dr. Yonas Bekuretsion, Institut für Pathologie des Universitätskrankenhauses Addis Abeba im Februar 2013 bereit gestellt werden konnten.

Das nach Deutschland gesendete Material wurde am Institut für Pathologie in Düren mittels HE-Färbung nach dem Routineverfahren bearbeitet. Unter der Leitung von Professor Steffen Hauptmann wurden die zu analysierenden Schnitte ausgewählt, wobei ein großer Teil der gesendeten Paraffinblöcke (n=99) aufgrund von anderer Entität (n=49) oder unzureichender Qualität (n=19) verworfen werden musste. Mit den verbliebenen 31 Proben stand schließlich Material zur Bestimmung der immunhistochemischen Eigenschaften zur Verfügung. Die immunhistochemische Analyse fand am MVZ für Histologie, Zytologie und Molekulare Diagnostik in Trier statt. Sowohl der HR- als auch der HER2-status konnten in 28 Fällen erhoben werden.

Zusätzlich wurden die Marker Ki-67, CK 5/6 und EGFR analysiert. Die immunhistochemische und histologische Bewertung unter dem Lichtmikroskop erfolgte ebenfalls durch Dr. Yonas Bekuretsion, Addis Abeba.

Die klinischen Daten der Patientinnen konnten aus der Datensammlung der bereits erwähnten Studie (Kantelhardt et al. 2014a) gewonnen und das metastasenfrie Überleben in 27 Fällen berechnet werden (Abb. 1).

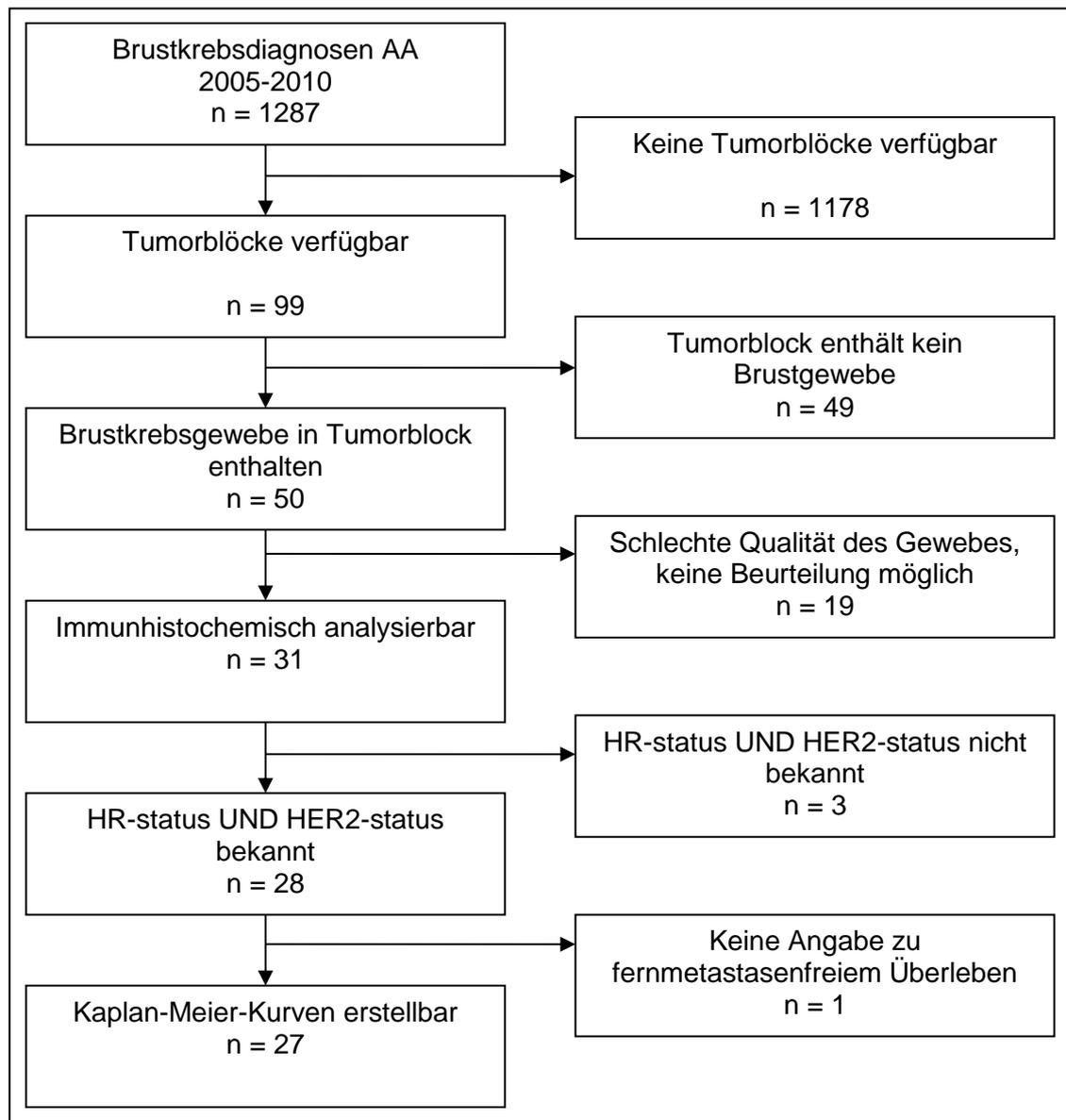


Abb. 1: Flussdiagramm Kohorte B
(AA – Universitätskrankenhaus Addis Abeba, HR – Steroidhormonrezeptoren, HER2 – Human epidermal growth factor receptor 2)

Ein individueller Vergleich der immunhistochemischen Ergebnisse beider Kohorten konnte jedoch nicht stattfinden. Es war logistisch nicht möglich, die älteren Blöcke/Zytologien aus der Kohorte A zusammen zu tragen, um sie in Deutschland erneut zu bestimmen. Verfügbar waren nach gleichem Protokoll behandelte FFPE-Blöcke von zeitlich etwas später behandelten Patientinnen.

Daher wurden beide Kohorten getrennt betrachtet und die Verteilung des HR-status in Kohorte B als Kontrolle für die Kohorte A genutzt (Abb. 2).

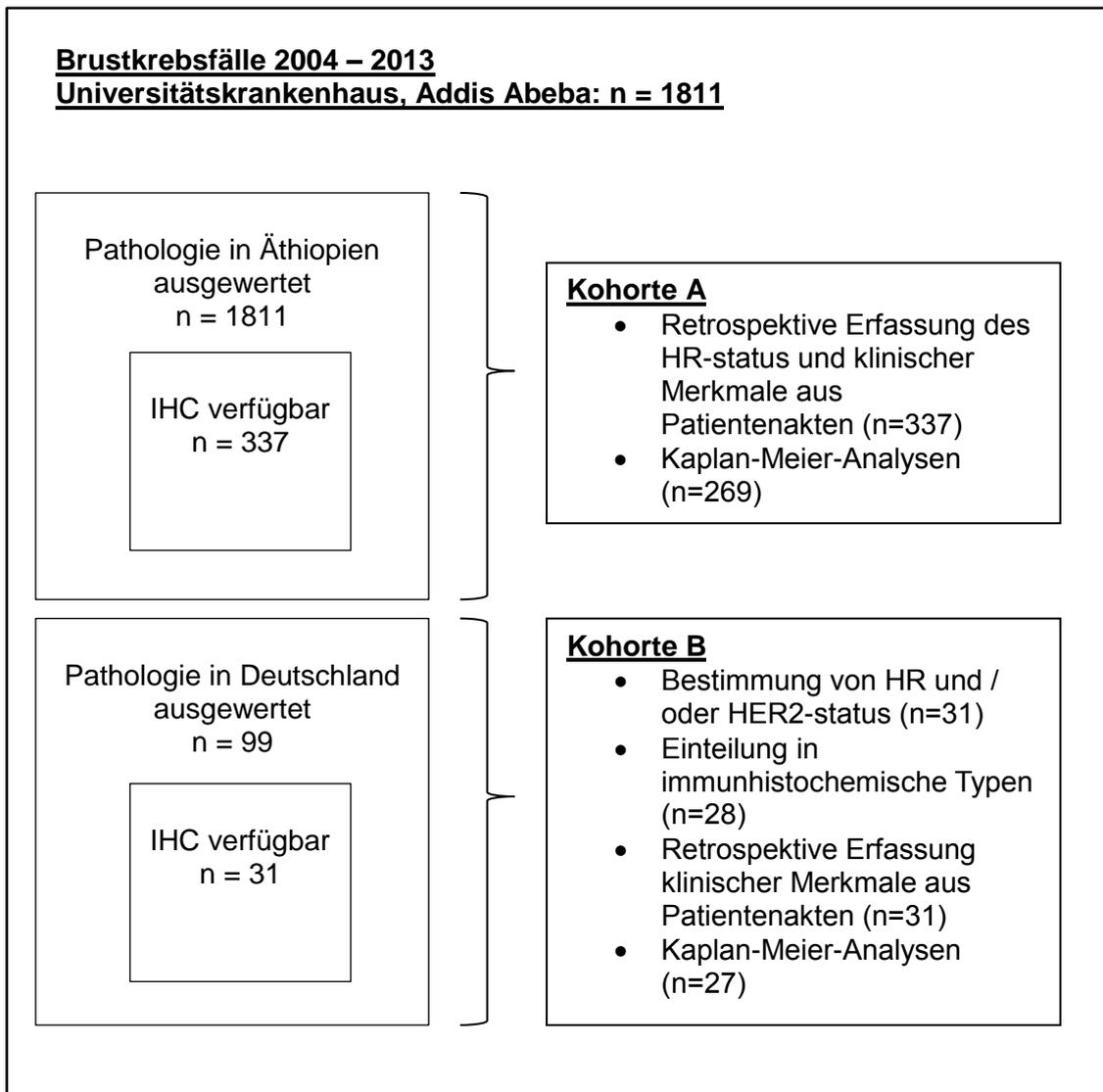


Abb. 2: Kohorten A und B
 (IHC – Immunhistochemie, HR – Steroidhormonrezeptoren, HER2 – Human epidermal growth factor receptor 2)

3.2 Immunhistochemische Verfahren

Durch immunhistochemische Verfahren können Antigene mittels Antikörpern im Gewebe sichtbar gemacht werden. Dabei bedient man sich des Mechanismus, dass bestimmte Antikörper spezifisch an bestimmte Antigensequenzen (Epitope) binden. Hiermit können zusätzliche Informationen über die Eigenschaften der Gewebszellen erhalten werden, die durch andere konventionelle Färbe- und Darstellungstechniken verborgen bleiben würden (Elling und Pink 1992, S. 118).

Die Antikörper, welche an die Antigene binden, sind entweder unmarkiert, direkt mit einem Farbstoff verbunden oder gekoppelt an Enzyme, welche eine zunächst farblose Substrat-Chromogen-Lösung in ein farbiges Produkt umsetzen. Dabei gibt es verschiedene Methoden mit unterschiedlichen Anzahlen an Zwischenschritten (Sekundär-, Tertiär-Antikörper, etc.). Die einzelnen Detektionssysteme der Antigene variieren in ihrer Methodik und zwischen den einzelnen Herstellern, darum sollen kurz die beiden in dieser Untersuchung verwendeten Verfahren der Kohorten A und B vorgestellt werden.

Kohorte A: Zwei-Schritt-Polymer-Methode

Bei dieser Methode bindet ein Sekundär-Antikörper mit einem angehängten enzymmarkierten Polymer-Molekül an den Primärantikörper, welcher an die Antigen-Sequenz des Gewebes geknüpft ist. Durch Zugabe der Substrat-Chromogen-Lösung kommt es zum farblichen Effekt und darauf folgt die Gegenfärbung mit Hämalaun. Durch das angehängte Polymer-Molekül wird die Sensitivität des Verfahrens gesteigert. Relativ geringer Arbeitsaufwand, geringere Gesamtdauer, Unbeeinflussbarkeit durch endogenes Biotin und die Möglichkeit, auch sehr geringe Antigenmengen zu detektieren, sind Vorteile dieser Methode, die Erhöhung der unspezifischen Hintergrundfärbung in dichtem Gewebe ein Nachteil (Lang 2013, S. 291-292).

Kohorte B: Indirekte Biotin-Streptavidin-Methode

Bei diesem Verfahren wird die starke Bindungsaffinität und Spezifität von Streptavidin zu Biotin für die Markierung ausgenutzt. Es bindet ein biotinylierter Sekundär-Antikörper an den unkonjugierten Primärantikörper. An diesen Sekundär-Antikörper bindet darauf ein Streptavidin-Biotin-Enzymkomplex und durch Zugabe der Substrat-Chromogen-Lösung kommt es zum farblichen Umschlag. Daraufhin erfolgt die Gegenfärbung mit Hämalaun. Im Vergleich zu Detektionsmethoden mit konjugierten Primärantikörpern hat dieses Verfahren eine hohe Sensitivität (Herbst und Hübner). Vorteil dieser Methode ist auch, dass so mehrere Marker an den Ort des Antigens gebracht werden können. Der Streptavidin-Biotin-Enzymkomplex kann mit jedem

biotinylierten Sekundär-Antikörper eingesetzt werden. Geachtet werden muss allerdings auf das Auftreten von endogenem Biotin (Lang 2013, S.291-292). In Geweben mit hohem Anteil endogenen Biotins wird dieses vorher blockiert oder es wird gleich auf eine Färbemethode mittels Polymersystem ausgewichen.

3.2.1 Ablauf der immunhistochemischen Färbung der Kohorte A (Addis Abeba)

Das Material für die pathologische und immunhistochemische Analyse wurde einerseits über Feinnadelaspiration / Zytologie (FNAC), andererseits über die Untersuchung der gewonnenen Operationsresektate bereitgestellt. Es wurden die Daten von Primärtumoren und – im Falle, dass eine immunhistochemische Analyse laut Patientenakte erst zu späterer Zeit nach Diagnosestellung erfolgte – auch von Lokalrezidiven verwendet.

Bei der Feinnadelaspiration werden mit einer Nadel der suspekte Befund in der Brust punktiert und über einen Unterdruck Zellen in die dazugehörige Spritze gesogen. Als minimalinvasives Verfahren hat das den Vorteil des geringeren Aufwands, geringerer kosmetischer Beeinträchtigungen sowie geringerer Kosten- und Zeitaufwendungen. Anschließend werden die gewonnenen Zellen auf Objektträgern verteilt, gefärbt und begutachtet (Fischer 2014, S. 199).

Die Angaben über das Verfahren der immunhistochemischen Aufbereitung der Operationsresektate stammten von Herrn Assaf, Medizinisch-Technischer-Assistent am Institut für Pathologie des Universitätskrankenhauses, Addis Abeba. Die immunhistochemischen Färbungen wurden mit dem Novolink Polymer Detection System Novocastra der Firma Leica Biosystems (Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch Deutschland) durchgeführt.

Die FFPE-Blöcke wurden zunächst in 4 µm dünne Schnitte geschnitten und für 5 Minuten zur Deparaffinierung in Xylen eingelegt. Darauf folgte die Rehydratation durch mehrmaliges Eintauchen des Objektträgers in eine Alkoholreihe absteigender Konzentration. Die einzelnen Schritte hierbei waren jeweils 5 Minuten zuerst zweimal in absolutem Alkohol, darauf einmal in 96%igen, 90%igen und 87%igen Alkohollösungen. Zur Antigendemaskierung wurden die Schnitte für 20 Minuten mit Citratpuffer inkubiert und anschließend in destilliertem Wasser gewaschen. Falls der Citratpuffer nicht zur Verfügung stand, wurden auch andere Lösungen mit einem pH < 6 benutzt.

Um die gewebeeigenen Peroxidasen zu hemmen, nutzte man einen Peroxid-Block (RE7101, Firma Leica Biosystems, Novocastra) und inkubierte für 5 Minuten, um darauffolgend den Proteinblock (RE7102, Firma Leica Biosystems, Novocastra) für

ebenfalls 5 Minuten zu applizieren. Zwischen und nach diesen beiden Schritten wurde jeweils zweimal für je 5 Minuten mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS, phosphat buffered saline) gespült.

Anschließend inkubierte man die Schnitte mit den monoklonalen Maus-Primärantikörpern (Tab. 3) und spülte sie wieder zweimal für je 5 Minuten mit PBS.

Tab. 3: Kohorte A: Verwendete Antikörper, Klon-Nummern, Verdünnung, Inkubationszeiten und -temperaturen

Antigen	Antikörper	Klon-Nr.	Verdünnung	Inkubationszeit	Inkubations-temperatur
Östrogenrezeptor (ER) (Leica Biosystems Newcastle Ltd)	Novocastra Flüssiger Monoklonaler Maus-Antikörper Estrogen Receptor	6F11	1:50	30 min	25°C
Progesteronrezeptor (PR) (Leica Biosystems Newcastle Ltd)	Novocastra Flüssiger Monoklonaler Maus-Antikörper Progesterone Receptor	1A6	1:40	60 min	25°C

Jetzt folgte das Einlegen für je 30 Minuten in den Post Primary Block (RE7111, Firma Leica Biosystems, Novocastra) und das Inkubieren mit Novo Link Polymer (RE7112, Firma Leica Biosystems, Novocastra). Dazwischen und danach wurde wieder zweimal für jeweils 5 Minuten mit PBS gespült.

Zum Schluss wurden die Schnitte 5 Minuten mit 50 µl 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) und 1 ml DAB Substratpuffer Polymer (RE7143, Firma Leica Biosystems, Novocastra) versetzt und mit Wasser gewaschen. Es folgt die Kerngegenfärbung mit Hämatoxylin (RE7107 Firma Leica Biosystems, Novocastra), gefolgt von dem sogenannten Bläuen in Wasser für 5 Minuten.

Die Einschätzung des HR-status erfolgte durch erfahrene Pathologen des Universitätskrankenhauses Addis Abeba nach dem Remmele-Stegner-Score und wurde retrospektiv aus den Akten erhoben.

3.2.2 Ablauf der immunhistochemischen Färbung der Kohorte B (Düren, Trier)

Die HE-Färbung nach dem Routineverfahren und die Auswahl der immunhistochemisch zu analysierenden Tumorblöcke erfolgte unter der Leitung von Professor Steffen Hauptmann am Institut für Pathologie in Düren. Daraufhin wurde das paraffineingebettete Tumorgewebe am MVZ für Histologie, Zytologie und Molekulare Diagnostik in Trier weiterbearbeitet.

Zunächst wurden die Tumorblöcke am Feinschnittmikrotom mit der üblichen Schnittdicke von 2 bis 4 µm geschnitten. Es folgte darauf die Glättung im heißen Wasserbad, das Aufziehen auf den Objektträger und schließlich die Trocknung bei ca. 37°C über Nacht.

Die immunhistochemischen Färbungen wurden mit dem automatisierten IHC-Färbeautomat „IHC Benchmark XT“ der Firma Roche-Ventana (Ventana Medical Systems, Inc., Tucson, Arizona, U.S.A.) und den folgenden kommerziell-erhältlichen monoklonalen Antikörpern durchgeführt (Tab. 4).

Tab. 4: Kohorte B: Verwendete Antikörper, Klon-Nummern, Verdünnung, Inkubationszeiten und -temperaturen

Antigen	Antikörper	Klon-Nr.	Verdünnung	Inkubationszeit	Inkubationstemperatur
Östrogenrezeptor (ER)	ANTI-ER (Kaninchen-IgG)	SP1	gebrauchsfertig	32 min	37°C
Progesteronrezeptor (PR)	anti-PR (Kaninchen-IgG)	1E2	gebrauchsfertig	32 min	37°C
Oncoprotein c-erbB-2	ANTI-HER-2/NEU (Kaninchen-IgG)	4B5	gebrauchsfertig	32 min	37°C
Ki-67	ANTI-KI-67 (Kaninchen-IgG)	30.9	gebrauchsfertig	32 min	37°C
Zytokeratin 5/6 (CK 5/6)	Cytokeratin 5/6 (Maus-IgG)	D5/16 B4	gebrauchsfertig	32 min	37°C
Epidermal growth factor receptor (EGFR)	ANTI-EGFR (Kaninchen-IgG)	5B7	gebrauchsfertig	32 min	37°C

Die Färbung folgte der indirekten Streptavidin-Biotin-Methode und nutzte vorgefertigte Färbekits der Firma Roche-Ventana (I VIEW DAB Detection Kit).

Nach dem Färbeprotokoll wurde das Gewebe zunächst mittels EZ-Prep-Lösung entparaffiniert und die Zellen durch einen Cell-Conditioner (Cell-Conditioner Nr. 1,

Ventana) zur Demaskierung der Bindungsstelle aufbereitet. Danach wurde der jeweilige Primärantikörper hinzugefügt und das Gewebe für die o.g. Dauer inkubiert. Um die Färbung unter dem Lichtmikroskop sichtbar zu machen, wurden nun die einzelnen Detektionskomponenten angefügt. Dazu gehörten der biotinylierte Sekundärantikörper (I-VIEW BIOTIN Ig, Ventana, 1 Tropfen), gekoppelt mit einem Meerrettichperoxidase-Enzym-Konjugat (I-VIEW SA-HRP, Ventana, 1 Tropfen), sowie das Chromogen DAB (I-VIEW DAB, Ventana, 1 Tropfen), Wasserstoffperoxid als Substrat (I-VIEW H₂O₂, Ventana, 1 Tropfen) sowie LCS zur Austrocknungsverhinderung. Es wurde jeweils für 8 Minuten inkubiert und zwischendurch mit dem Reaktionspuffer gespült. Die Peroxidase oxidiert das Wasserstoffperoxid und das DAB fällt als Reaktionsprodukt mit bräunlicher Farbe aus. Im Falle der HER2-Färbung wurde vor der Zugabe des Detektionssystems noch jeweils ein Tropfen AMPLIFIER A bzw. B (Ventana) hinzugefügt und jeweils für 8 min inkubiert.

Zum Schluss folgte I-VIEW COPPER (1 Tropfen, Inkubation für 4 min) und zur Gegenfärbung 1 Tropfen Hämatoxylin sowie nochmals LCS für 4 min.

Das immunhistochemische Labor am MVZ für Histologie, Zytologie und Molekulare Diagnostik in Trier hat im Jahr 2011 und 2012 an Ringversuchen zu Östrogen- und Progesteronrezeptoren, HER2/neu und Ki-67 erfolgreich teilgenommen.

Die Einschätzung des HR-status mit dem Lichtmikroskop wurde nach dem Remmele-Stegner-Score durchgeführt, die des HER2-status nach dem bereits in der Einleitung erwähnten Scorekriterien (siehe 1.3.4). Beide Bewertungen wurden durch Dr. Yonas Bekuretsion vorgenommen.

3.3 Statistische Verfahren

Für die statistische Analyse wurde das Programm SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) der Version 22 verwendet. Die Merkmale der Patientinnen und Tumoren wurden über Mittelwerte bzw. Mediane oder absolute und relative Häufigkeiten beschrieben. Die fernmetastasenfreie Überlebenszeit wurde durch Kaplan-Meier-Kurven und 1- und 2-Jahres-Überlebensraten dargestellt. Um den Einfluss klinisch-pathologischer Faktoren auf den Anteil HR-negativer Fälle und das fernmetastasenfreie Überleben zu erfassen, wurden eine binäre logistische Regressionsanalyse und eine Cox-Regressionsanalyse durchgeführt.

3.3.1 Einschlusskriterien

Es wurden alle Fälle eingeschlossen, zu welchen mindestens ein Ergebnis zum ER- oder PR-Status vorlag.

Der HR-status wurde positiv bewertet, wenn ER und/oder PR positiv erfasst war (Kantelhardt et al. 2012).

Fälle, die einen bekannten HR- und HER2-status vorwiesen (Kohorte B), wurden nach folgendem Schema in immunhistochemische Typen klassifiziert:

Tab. 5: Einteilung IHC-Typen nach HR- und HER2-status

HR+/HER2-	HR+/HER2+	HR-/HER2+	Tripel-negativ
HR positiv und HER2 negativ	HR positiv und HER2 positiv	HR negativ und HER2 positiv	HR negativ und HER2 negativ

(IHC – Immunhistochemisch, HR - Steroidhormonrezeptoren, HER2 - Human epidermal growth factor receptor 2)

3.3.2 Deskriptive Statistik und Häufigkeitsverteilung

Die Verteilungen der Häufigkeiten der einzelnen immunhistochemischen Marker (ER, PR, HER2, Ki-67, CK5/6, EGFR) wurden berechnet. Zur klinischen Beschreibung der Kohorten wurden zusätzlich Geschlecht, Alter bei erstem Krankenhausbesuch, Herkunft (innerhalb Äthiopiens), Anzahl der Kinder, Menopausenstatus, Grading, Staging, Histologische Klassifikation und das Material für die pathologische Diagnosestellung festgehalten. Bei unbekanntem Menopausenstatus wurde dieser über das Alter geschätzt (< 50 Jahre: prämenopausal, ≥ 50 Jahre: postmenopausal)

Die Angaben zum Staging wurden aus den Krankenakten übernommen. In Fällen, in denen ein klinisches T4-Stadium erwähnt wurde, wurde diesem Vorrang vor jeglichen pathologischen T-Stadien eingeräumt. In jenen, in denen keine Operation stattgefunden hat, wurde ebenfalls das klinische T-Stadium dokumentiert.

Falls keine Informationen zur Verfügung standen, wurde nach den Vorgaben der TNM-Klassifikation mit Hilfe der Tumorgröße in cm, des Nodalstatus sowie dem Auftreten von Fernmetastasen das Staging festgelegt (siehe 1.3.1). Da beim Nodalstatus nicht immer die veranschlagte Anzahl der zu untersuchenden Lymphknoten zur Verfügung stand, wurde festgelegt, dass für N1 mindestens die Hälfte der untersuchten Lymphknoten, für N2 vier bis neun und für N3 mindestens 10 Lymphknoten betroffen

sein mussten. Fernmetastasen wurden bei verdächtigen klinischen Symptomen oder einem positiven Röntgenbefund angenommen.

Das Grading wurde nach dem Schema von Elston und Ellis (siehe 1.3.3) durchgeführt.

Um Unterschiede zwischen beide Kohorten bzw. zwischen HR-positiven und – negativen Patientinnen zu bewerten, wurden folgende Grenzwerte angenommen: Altersunterschiede von mehr als 5 Jahren sowie prozentuale Unterschiede in den Verteilungen von mindestens 10% wurden als erwähnenswerter Unterschied dargestellt.

3.3.3 Bestimmung des Einflusses klinischer und pathologischer Merkmale auf die Wahrscheinlichkeit der Hormonrezeptornegativität

Die Verteilung der HR-positiven und -negativen Tumoren in den einzelnen klinischen und pathologischen Gruppen wurde zusammengefasst und eine binäre logistische Regression mit sequentielltem Ausschlussverfahren für das Auftreten von HR-negativität in Abhängigkeit von den unabhängigen Variablen Alter ($</\geq$ 50 Jahre), Herkunft (innerhalb Äthiopiens: Addis Abeba/ Nicht-Addis-Abeba), Staging (Stage 1 und 2/ Stage 3 und 4) und histologischer Klassifikation (duktal/ lobulär/ andere) durchgeführt. Das Grading wurde aufgrund der großen Anzahl fehlender Werte nicht in die Analyse einbezogen. Zur Aufnahme bzw. zum Ausschluss aus dem Modell wurde ein p-Wert von 0,1 bzw. 0,2 festgelegt und die Odds Ratios (OR) mit 95%igem Konfidenzintervall (KI) berechnet. Im Ergebnisteil wurden die Endergebnisse der Modellierung dargestellt.

3.3.4 Analyse des fernmetastasenfreien Überlebens

Eingeschlossen in die Analyse des fernmetastasenfreien Überlebens wurden alle Patientinnen, welche zum Diagnosezeitpunkt noch keine Fernmetastasen vorwiesen (n=269). Für die Überlebenszeitanalyse wurden Kaplan-Meier-Schätzer genutzt.

Als Startpunkt diente das Datum der ersten Bestätigung des Karzinoms durch eine pathologische Diagnostik (FNAC oder Operation). Lag dieses nicht vor, wurde das Datum der endgültigen pathologischen Diagnose eingetragen, welches häufig in Zusammenhang mit der HR-analyse in den Akten des Instituts für Pathologie am Universitätskrankenhaus, Addis Abeba auftauchte. Im Falle, dass auch dieses nicht vorhanden war, wurde das Datum eingetragen, welches auf den Patientenakten notiert war und somit für den ersten Kontakt zum Krankenhaus stand. Das fernmetastasenfreie Gesamtüberleben berechnete sich aus der Zeitspanne von Startpunkt bis zur dokumentierten Fernmetastase (Ereignis) bzw. bis zum letzten

Datum des Patientenkontakts (Zensierung). Bei Fällen, die zensiert wurden, ist also bis zum Ende der Beobachtung keine Fernmetastase aufgetreten: die Patientin ist verstorben oder nicht mehr zur Nachbeobachtung erschienen.

Für diese Arbeit lagen für die Nachbeobachtung nur Informationen aus den Krankenakten des Universitätskrankenhauses, Addis Abeba vor. Die Patientinnen erhielten im Rahmen eines Projektes kostenfrei Tamoxifen, sodass sie einen Anreiz hatten, weiter an der Klinik betreut zu werden. Allerdings war bei vielen Patientinnen ein Abbruch der Behandlung zu sehen (Patientin kommt z.B. nach sechs Monaten nicht mehr in die Sprechstunde). Dies ist typisch für Länder mit begrenzten Ressourcen, wo die Patientinnen z.B. auf Grund ihrer finanziellen Situation nicht mehr in das Krankenhaus kommen. Um herauszufinden, ob etwaige Überlebensvorteile zwischen den untersuchten Gruppen durch stark differierende Zensierungsmuster bedingt sein könnten, wurde im Rahmen einer Sensitivitätsanalyse eine Kaplan-Meier-Kurve mit der Zensierung als Outcome erstellt. Dabei sollte festgestellt werden, ob Patientinnen mit negativem HR-status aufgrund ihrer schlechteren Prognose früher aus der Behandlung ausstiegen und nicht mehr zur Behandlung kamen (z.B. weil sie bereits zu Hause verstorben sind).

Zur multivariaten Schätzung des Einflusses von HR-status, Alter, Herkunft, Staging und histologischer Klassifikation auf die fernmetastasenfreie Überlebenswahrscheinlichkeit wurde ein Cox-Regressions-Modell mit sequentiellem Ausschlussverfahren durchgeführt und die Hazard Ratios mit 95%igem Konfidenzintervall berechnet (Aufnahme-p-Wert 0,1; Ausschluss-p-Wert 0,2). Auch hier wurde das Grading aufgrund der großen Anzahl fehlender Werte nicht in die Analyse aufgenommen.

4 Ergebnisse

4.1 Verteilung und Häufigkeiten von Östrogen-, Progesteron- und Hormonrezeptoren in Kohorte A und B

In Kohorte A mit einer Fallzahl von n=337 waren 38% (n=127) der dokumentierten Fälle HR-negativ bzw. negativ für ER. Der Anteil PR-negativer Tumoren lag etwas höher bei 52% (n=167). Bei diesen retrospektiv erhobenen Daten zeigte sich damit, dass der Anteil HR-negativer Tumoren bei den untersuchten Patientinnen weniger als die Hälfte betrug (Tab. 6).

Die immunhistochemische Analyse der Kohorte B wurde in einem Referenzlabor in Deutschland durchgeführt und diente der Kontrolle der in Äthiopien erhobenen immunhistochemischen Daten. Ein individueller immunhistochemischer Vergleich der Tumorproben war allerdings nicht möglich.

Der ER-Status war in Kohorte B bei ca. der Hälfte der Tumorblöcke negativ (n=15; 52%). PR-negativ waren 57% (n=17).

Insgesamt wurden HR-negative Ergebnisse in 45% (n=14) des untersuchten Materials festgestellt (Tab. 6).

Tab. 6: Verteilung: Östrogen-, Progesteron- und Hormonrezeptorstatus in Kohorte A und B

Merkmal	Kohorte A Anzahl n (%)	Kohorte B Anzahl n (%)
Östrogenrezeptorstatus - positiv - negativ	n=332 205 (62) 127 (38)	n=29 14 (48) 15 (52)
Progesteronrezeptorstatus - positiv - negativ	n=318 151 (48) 167 (52)	n=30 13 (43) 17 (57)
Hormonrezeptorstatus - positiv - negativ	n=337 210 (62) 127 (38)	n=31 17 (55) 14 (45)

4.2 Verteilung des Anteils an ER- und/oder PR-negativen Tumoren in klinischen und pathologischen Gruppen in Kohorte A und B

Durch die z.T. lückenhafte Dokumentation in den Patientenakten konnten nicht alle Fälle zu jeder Variable ausgewertet werden. Eine Aufstellung der

Häufigkeitsverteilungen der klinischen und pathologischen Merkmale jeweils der gesamten Kohorte und aufgeteilt nach dem HR-status liefern die folgenden Übersichten.

4.2.1 Verteilung des Anteils an ER- und/oder PR-negativen Tumoren in klinischen und pathologischen Gruppen in Kohorte A

Die Daten der Kohorte A wurden retrospektiv aus den Patientenakten des Universitätskrankenhauses in Addis Abeba erhoben.

Von den 337 betrachteten Patienten waren 3 (0,9%) männlich. Das mediane Alter der Patientinnen war 40 Jahre, wobei die jüngste Patientin 20 und die älteste 80 Jahre alt war. Die mittlere Anzahl Kinder betrug drei. Es überwogen die Patientinnen, die aus Addis Abeba kamen (n=173; 62%). Zum Zeitpunkt der Diagnose wiesen 50% (n=156) der Patientinnen einen prämenopausalen und 50% (n=157) einen postmenopausalen Status auf.

Es wurden größtenteils Tumoren mit Grade 2 und 3 dokumentiert (n=115; 85%). Insgesamt 163 Patientinnen (56%) verzeichneten mindestens ein T3-Stadium und bei 191 Patientinnen (81%) traten Lymphknotenmetastasen auf. Tumore in fortgeschrittenen Stadien (mindestens Stage 3) überwogen mit 77% (n=188). Histologisch traten vor allem duktale Karzinome auf (n=238; 73%) und der Anteil lobulärer Karzinome lag bei 7% (n=21). Zur Bestimmung der pathologischen Eigenschaften wurden in 68% (n=200) der Fälle das Operationsresektat und in 32% (n=92) der Fälle Zellen aus der FNAC genutzt (Tab. 7).

In der Aufteilung der klinischen und pathologischen Merkmale der Kohorte A nach dem HR-status stellten sich beide Gruppen mit ähnlichen Verteilungen dar.

Die HR-negativen Patientinnen waren geringfügig jünger im Vergleich zu den HR-positiven Patientinnen (38 vs. 42 Jahre medianes Alter). Herkunft, Anzahl der Kinder, Menopausenstatus, Grading, Tumorgöße und das Auftreten von Lymphknotenmetastasen waren in beiden Gruppen ähnlich verteilt. Tumore mit Stage 3 traten unter den HR-negativen Patientinnen etwas häufiger auf (72% vs. 62%). Pathologische Analysen, die an Zellen der FNAC durchgeführt wurden, waren in weniger Fällen HR-negativ als bei der histologischen Aufbereitung von Gewebe aus Operationsresektaten.

Tab. 7: Klinische und pathologische Eigenschaften Kohorte A

Merkmal	Kohorte A gesamt Anzahl n (%)	HR-positiv Anzahl n (%)	HR-negativ Anzahl n (%)
Medianes Alter in Jahren (Min. – Max. Alter)	40 (20 – 80)	42 (24 – 80)	38 (20 – 77)
Alter (in Jahren)	n=332	n=208	n=124
- < 30	34 (10)	22 (11)	12 (10)
- 30-39	120 (36)	66 (32)	54 (44)
- 40-49	75 (22)	47 (23)	28 (22)
- 50-59	45 (14)	30 (14)	14 (12)
- ≥ 60	58 (18)	43 (20)	15 (12)
- Unbekannt	5 (2)	2 (1)	3 (2)
Herkunft	n=281	n=178	n=103
- AA	173 (62)	114 (64)	59 (57)
- Nicht-AA	108 (38)	64 (36)	44 (43)
- Unbekannt	56 (17)	32 (15)	24 (19)
Anzahl der Kinder	n=231	n=141	n=90
- Bis 3	144 (62)	85 (60)	59 (66)
- 4 bis 6	45 (20)	32 (23)	13 (14)
- Mehr als 6	42 (18)	24 (17)	18 (20)
- Unbekannt	106 (32)	69 (33)	37 (30)
Menopausenstatus bei Diagnose	n=313	n=199	n=114
- Prämenopausal	156 (50)	98(49)	58 (51)
- Postmenopausal	157 (50)	101 (51)	56 (49)
- Unbekannt	24 (7)	11 (5)	13 (10)
Grading	n=136	n=83	n=53
- G1	21 (15)	15 (18)	6 (11)
- G2	73 (54)	43 (52)	30 (57)
- G3	42 (31)	25 (30)	17 (32)
- Unbekannt	201 (60)	127 (61)	74 (58)
Tumorgöße: T-Stadium (cT und pT)	n=292	n=183	n=109
- T1	71 (24)	49 (27)	22 (20)
- T2	58 (20)	37 (20)	21 (19)
- T3	50 (17)	27 (15)	23 (21)
- T4	113 (39)	70 (38)	43 (40)
- Unbekannt	45 (13)	25 (8)	20 (7)

Auftreten von Lymphknotenmetastasen			
- Ja	n=235 191 (81)	n=141 116 (82)	n=94 75 (80)
- Nein	44 (19)	25 (18)	19 (20)
- Unbekannt	102 (30)	69 (33)	33 (26)
Stage	n=246	n=154	n=92
- 1	18 (7)	11 (7)	7 (7)
- 2	40 (16)	29 (19)	11 (12)
- 3	161 (66)	95 (62)	66 (72)
- 4	27 (11)	19 (12)	8 (9)
- Unbekannt	91 (27)	56 (27)	35 (28)
Histologische Klassifikation	n=326	n=205	n=121
- Duktal	238 (73)	143 (70)	95 (78)
- Lobulär	21 (7)	12 (6)	9 (8)
- Muzinös	8 (2)	8 (4)	0 (0)
- Andere	59 (18)	42 (20)	17 (14)
- Unbekannt	11 (3)	5 (2)	6 (5)
Material für pathologische Diagnose	n=292	n=179	n=113
- Feinnadelaspiration/ Zytologie	92 (32)	63 (30)	29 (23)
- Operationsresektat	200 (68)	116 (70)	84 (77)
- Unbekannt	45 (13)	31 (15)	14 (11)

(HR = Steroidhormonrezeptoren, AA = Addis Abeba, cT = klinisch festgestelltes T-Stadium, pT = T-Stadium durch Pathologen)

4.2.2 Verteilung des Anteils an ER- und/oder PR-negativen Tumoren in klinischen und pathologischen Gruppen in Kohorte B

Von den Brustkrebspatientinnen der Kohorte B wurden 31 Tumorblöcke nach Deutschland geschickt und hier ausgewertet. Unter Beachtung der geringen Fallzahl zeigten sich folgende Ergebnisse:

Unter allen Patienten befand sich ein männlicher Brustkrebspatient (3%). Das mediane Alter betrug 40 Jahre, wobei die jüngste Patientin 22 und die Älteste 68 Jahre alt waren. Über die Hälfte der Patientinnen lebte in Addis Abeba (n=10; 59%), waren prämenopausal (n=19; 70%) und hatten im Durchschnitt vier Kinder.

Tumoren mit Grade 2 und 3 überwogen auch hier deutlich gegenüber Grade 1 (n=27; 93%). Von 27 verfügbaren Ergebnissen wiesen die meisten ein T2-Stadium auf (n=12; 44%). T3 oder T4 wurde in 41% (n=11) der Fälle dokumentiert und ca. 70% (n=14) der

Patientinnen verzeichneten Lymphknotenmetastasen. Tumore in fortgeschrittenen Stadien dominierten also auch hier, wobei Tumoren in Stage 1 gar nicht auftraten. Die histologischen Untersuchungen ergaben, dass zu 84% (n=26) duktale Karzinome vorlagen und zu 17% (n=5) seltenere Formen. Lobuläre Karzinome waren nicht vertreten. Die pathologischen und immunhistochemischen Eigenschaften wurden alle anhand von Tumorblöcken aus Operationsresektaten festgestellt (Tab. 8).

Durch die geringen Fallzahlen ist die Auswertung der klinischen und pathologischen Eigenschaften aufgeteilt nach dem HR-status nur wenig aussagekräftig und wird an dieser Stelle in der Tabelle nur der Vollständigkeit halber mit aufgeführt.

Tab. 8: Klinische und pathologische Eigenschaften Kohorte B

Merkmal	Kohorte B gesamt Anzahl n (%)	HR-positiv Anzahl n (%)	HR-negativ Anzahl n (%)
Medianes Alter in Jahren (Min. – Max. Alter)	40 (22 - 68)	40 (22 - 67)	38 (26 – 68)
Alter in Jahren	n=30	n= 16	n=14
- < 30	3 (11)	1 (6)	2 (14)
- 30 – 39	11 (36)	6 (38)	5 (36)
- 40 – 49	11 (36)	5 (31)	6 (43)
- 50 – 59	0 (0)	0 (0)	0 (0)
- ≥ 60	5 (17)	4 (25)	1 (7)
- Unbekannt	1 (3)	1 (6)	0 (0)
Herkunft	n=17	n=10	n=7
- AA	10 (59)	5 (50)	5 (72)
- Nicht-AA	7 (41)	5 (50)	2 (28)
- Unbekannt	14 (45)	7 (41)	7 (50)
Anzahl der Kinder	n=31	n=17	n=14
- Bis 3	13 (42)	8 (47)	5 (36)
- 4 bis 6	9 (29)	5 (29)	4 (28)
- Mehr als 6	9 (29)	4 (24)	5 (36)
- Unbekannt	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Menopausenstatus bei Diagnose	n=27	n=15	n=12
- Prämenopausal	19 (70)	9 (60)	10 (83)
- Postmenopausal	8 (30)	6 (40)	2 (17)
- Unbekannt	4 (13)	2 (12)	2 (14)

Grading	n=29	n=16	n=13
- G1	2 (7)	2 (12)	0 (0)
- G2	15 (52)	8 (50)	7 (54)
- G3	12 (41)	6 (38)	6 (46)
- Unbekannt	2 (7)	1 (6)	1 (7)
Tumorgröße: T-Stadium (cT und pT)	n=27	n=14	n=13
- T1	4 (15)	2 (14)	2 (15)
- T2	12 (44)	7 (50)	5 (39)
- T3	9 (33)	3 (21)	6 (46)
- T4	2 (8)	2 (14)	0 (0)
- Unbekannt	4 (13)	3 (18)	1 (7)
Auftreten von Lymphknotenmetastasen	n=20	n=12	n=8
- Ja	14 (70)	8 (67)	6 (75)
- Nein	6 (30)	4 (33)	2 (25)
- Unbekannt	11 (36)	5 (29)	6 (43)
Stage	n=20	n=11	n=9
- 1	0 (0)	0 (0)	0 (0)
- 2	8 (40)	5 (45)	3 (33)
- 3	9 (45)	5 (46)	4 (45)
- 4	3 (15)	1 (9)	2 (32)
- Unbekannt	11 (36)	6 (35)	5 (36)
Histologische Klassifikation	n=31	n=17	n=14
- Duktal	26 (84)	14 (82)	12 (86)
- Lobulär	0 (0)	0 (0)	0 (0)
- Muzinös	3 (9)	2 (12)	1 (7)
- Andere	2 (7)	1 (6)	1 (7)
- Unbekannt	0(0)	0 (0)	0 (0)
Material für pathologische Diagnose	n=31	n=16	n=15
- Feinnadelaspiration/ Zytologie	0 (0)	0 (0)	0 (0)
- Operationsresektat	31 (100)	16 (100)	16 (100)
- Unbekannt	0 (0)	0 (0)	0 (0)

(HR = Steroidhormonrezeptoren, AA = Addis Abeba, cT = klinisch festgestelltes T-Stadium, pT = T-Stadium durch Pathologen)

Das mediane Alter der Patientinnen war in beiden Kohorten A und B gleich (40 Jahre) und auch die mittlere Anzahl der Kinder, die Herkunftsverteilungen sowie das Auftreten von mehrheitlich mäßig bis schlecht differenzierten Karzinomen zeigte ähnliche Muster. Kohorte A verzeichnete allerdings mehr fortgeschrittene Tumorstadien (T3/4: A: 56% vs. B: 42%; Stage 3/4: A: 77% vs. B: 60%) und mehr postmenopausale Patientinnen als Kohorte B. In beiden Kohorten waren die duktales Karzinome am weitaus häufigsten vertreten; der prozentuale Anteil lag in Kohorte B deutlich höher (73% vs. 84%). Dadurch, dass die pathologischen Diagnosen der Kohorte B an nach Deutschland gesendeten Tumorblöcken gestellt wurden, bestand auch bei diesem Merkmal ein weiterer Unterschied. Die in Äthiopien gestellten pathologischen Diagnosen wurden zu 35% (n=110) aus Zellen der FNAC gewonnen.

4.3 Bestimmung des Einflusses klinischer und pathologischer Merkmale auf die Wahrscheinlichkeit für Hormonrezeptornegativität

Um den Einfluss klinischer und pathologischer Merkmale auf den HR-status zu bestimmen, wurde eine binäre logistische Regressionsanalyse mit n=203 Fällen durchgeführt (siehe 3.3.3).

Die unabhängigen Variablen Alter, Stage und Histologie wurden in das Modell aufgenommen. Es zeigte sich, dass jüngere Patientinnen (<50 Jahre) sowie Patientinnen mit fortgeschrittenem Karzinom (Stage 3 und 4 vs. Stage 1 und 2) ein erhöhtes Risiko für einen negativen HR-status hatten. Das Risiko der HR-negativität war bei duktales Karzinomen im Vergleich zu anderen Karzinomen um das 3,1-fache (95%KI 1,2 - 7,8) erhöht. Lobuläre Karzinome hatten im Vergleich zu anderen histologischen Typen ein 2,5-faches Risiko (95%KI 0,5 – 12,0) (Tab. 9).

Tab. 9: Ergebnisse der Logistischen Regressionsanalyse

		p-Wert	OR (95%KI)
Schritt 2 ^a	Alter (< 50 Jahre)	0,149	1,7 (0,8-3,5)
	Stage (3/4)	0,075	2,0 (0,9-4,3)
	Histologie (duktal)	0,019	3,1 (1,2-7,8)
	Histologie (lobulär)	0,236	2,5 (0,5-12,0)

(OR – Odds Ratio, 95% KI – 95%iges Konfidenzintervall)

4.4 Erweiterte immunhistochemische Charakterisierung der Kohorte B

Die in Deutschland analysierten Tumorblöcke (Kohorte B) wurden einer erweiterten immunhistochemischen Charakterisierung unterzogen. Dazu gehörte die Bestimmung des HER2-status und der Marker Ki-67, EGFR und CK 5/6.

HER2-status

Für die Angaben des HER2-status standen 28 Proben zur Verfügung. 68% (n=19) wurden dabei als negativ befundet (Tab. 10).

Tab. 10: Verteilung: Häufigkeiten HER2 in Kohorte B

Merkmal	Kohorte B Anzahl n (%)
HER2-status	n = 28
- positiv	9 (32)
- negativ	19 (68)

(HER2 – Human epidermal growth factor receptor 2)

Dadurch konnte der jeweilige Anteil der einzelnen immunhistochemischen Typen unter den Fällen, welche vollständig für ER, PR sowie HER2 klassifiziert wurden (n=28), dargestellt werden (Abb. 3). Unter den HR-pos./ HER2-neg. (n=10) gab es acht Fälle (80%) mit erhöhtem Ki-67. Weiterhin wurde deutlich, dass der Anteil tripel-negativer Tumoren der untersuchten Proben bei 32% (n=9) lag.

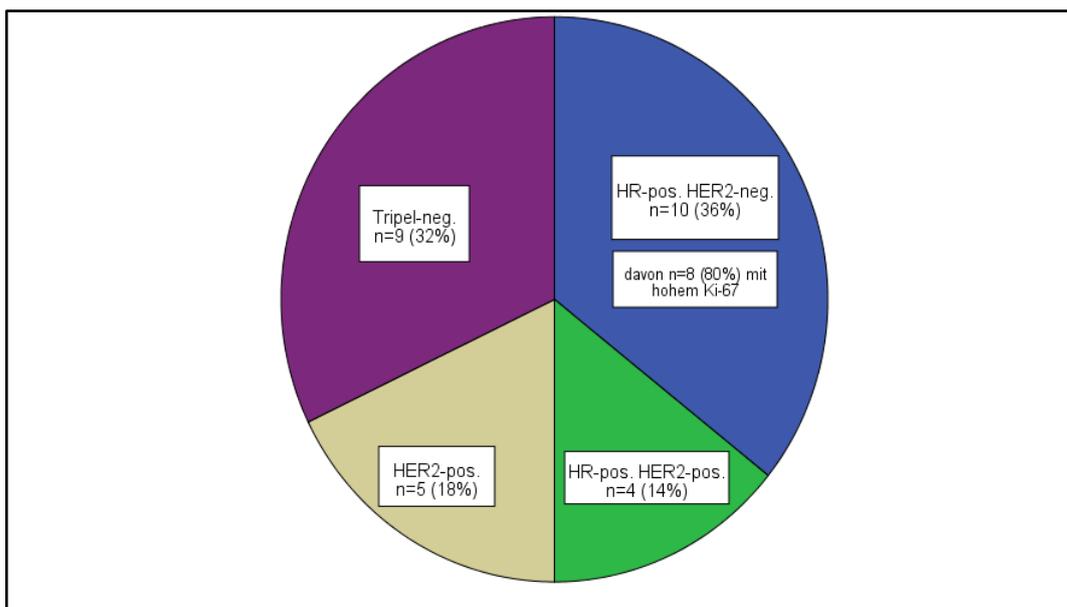


Abb. 3: Immunhistochemische Typen in Kohorte B
(HR – Steroidhormonrezeptoren, HER2 – Human epidermal growth factor receptor 2, Ki-67 – Kiel 67, pos. – positiv, neg. – negativ)

Ki-67, EGFR und Ck5/6

Ki-67 konnte in 26 Tumorproben getestet werden und war in der Mehrzahl der Fälle mindestens mäßig positiv (n=19; 73%). EGFR und CK 5/6 wurden jeweils in 29 Fällen bestimmt. EGFR war dabei in 19 Fällen negativ (65%) und CK 5/6 in 15 Fällen (52%).

Tab. 11: Verteilung von Ki-67, EGFR und Ck5/6 in Kohorte B

Merkmal	Kohorte B Anzahl n (%)
Ki-67 - niedrig positiv (<14%) - mäßig positiv - stark positiv	n = 26 7 (27) 9 (35) 10 (38)
EGFR - positiv - negativ	n = 29 10 (35) 19 (65)
CK 5/6 - positiv - negativ	n = 29 14 (48) 15 (52)

(Ki-67 – Kiel 67, EGFR – Epidermal growth factor receptor, CK 5/6 – Zytokeratin 5/6)

4.5 Analysen des fernmetastasenfreien Überlebens

4.5.1 Bestimmung des Einflusses klinischer und pathologischer Merkmale auf das fernmetastasenfreie Überleben

In die Cox-Regressionsanalyse mit den Variablen HR-status, Herkunft, Alter, Stage und Histologie wurden n=161 Fälle eingeschlossen (siehe 3.3.4).

Es wurden die Variablen Herkunft, Staging und Histologie in das Modell aufgenommen. Sowohl die Herkunft aus Addis Abeba (im Vergleich zu anderen Regionen innerhalb Äthiopiens) und fortgeschrittene Karzinome (Stage 3/4 im Vergleich zu 1/2), als auch lobuläre histologische Typen (im Vergleich zu duktalem Karzinomen) zeigten dabei einen Trend zum erhöhten Risiko, Metastasen zu entwickeln (Tab. 12).

Tab. 12: Auszug aus den Ergebnissen der Cox-Regressionsanalyse

		p-Wert	Hazard Ratio (95%KI)
Schritt 3	Herkunft (aus Addis Abeba)	0,165	1,6 (0,8-3,0)
	Stage 3/4	0,207	1,7 (0,8-3,6)
	Histologie (duktal)	0,057	0,5 (0,3-1,0)
	Histologie (lobulär)	0,412	1,6 (0,5-4,5)

(95% KI – 95%iges Konfidenzintervall)

4.5.2 Analysen des fernmetastasenfreien Überlebens durch Kaplan-Meier-Analysen

Mit den Kaplan-Meier-Analysen wurde die Zeitspanne von Beginn der Beobachtung bis zum Auftreten von Fernmetastasen dargestellt (siehe 3.3.3). Für die Kohorte A wurden die gesamte Kohorte (n= 269) und der Einfluss des HR-status (n=269, HR-neg. n= 99, HR-pos. n=170) untersucht. Zum Vergleich sind daneben die Ergebnisse der Kaplan-Meier-Analysen von Kohorte B abgebildet (Gesamtkohorte n= 27, HR-neg. n=12, HR-pos. n=15). Zusätzlich wurde der Einfluss der einzelnen immunhistochemischen Typen in Kohorte B (siehe 3.3.1, n=24) auf das fernmetastasenfreie Überleben analysiert. HR-positive Patientinnen hatten die Option zur Einnahme von Tamoxifen.

Fernmetastasenfreie Gesamtüberlebenswahrscheinlichkeit

Die fernmetastasenfreie 1-Jahres-Überlebensrate in Kohorte A betrug 89%. Zu diesem Zeitpunkt waren 185 der 269 Patientinnen unter Beobachtung und hatten noch keine Metastasen entwickelt. Nach 2 Jahren betrug der Anteil der Patientinnen ohne Metastasen noch 77%: 95 Patientinnen aller Patientinnen, für welche noch Informationen vorlagen, hatten noch keine Fernmetastasen entwickelt. Das mediane Follow-up betrug 19 Monate.

In Kohorte B betrug die fernmetastasenfreie 1-Jahres-Überlebensrate 78%. 14 der 27 Patientinnen waren unter Beobachtung und fernmetastasenfrei. Das mediane Follow-up betrug 14 Monate.

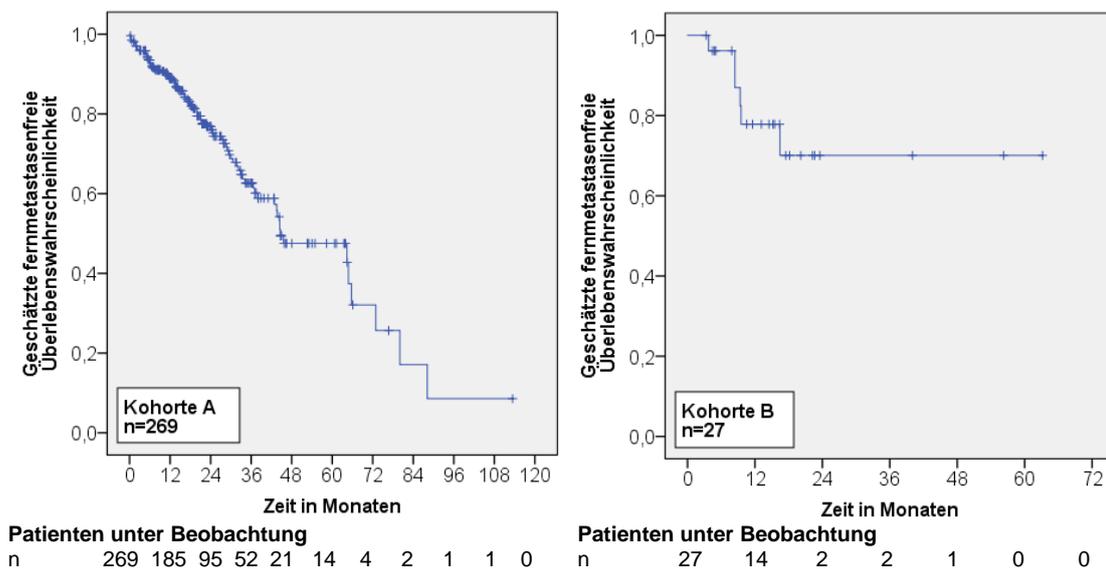


Abb. 4: Kaplan-Meier-Analyse für Kohorte A und B

Einfluss des HR-status auf die fernmetastasenfreie Überlebenswahrscheinlichkeit

Für die Kaplan-Meier-Analysen - aufgeteilt nach HR-status - standen in Kohorte A 269 Fälle zur Verfügung. 63% davon waren HR-positiv (n=170), 37% waren HR-negativ (n=99). Die fernmetastasenfreie 1-Jahres-Überlebensrate betrug für HR-positive Patientinnen in beiden Gruppen 89% bei 113 von 170 Patientinnen unter Beobachtung (HR-pos.) und 71 von 99 Patientinnen unter Beobachtung (HR-neg.). Nach zwei Jahren hatten von den HR-positiven Patientinnen 80% noch keine Fernmetastasen entwickelt (63 Patientinnen unter Beobachtung) und von den HR-negativen Patientinnen 72% (31 Patientinnen unter Beobachtung). Das mediane Follow-up unter HR-positiven und HR-negativen Patientinnen betrug jeweils 19 Monate.

In Kohorte B war die 1-Jahresüberlebensrate 83% (HR-pos.) bzw. 71% (HR-neg.). Das mediane Follow-up betrug unter HR-positiven Patientinnen 16 Monate, unter HR-negativen 12 Monate.

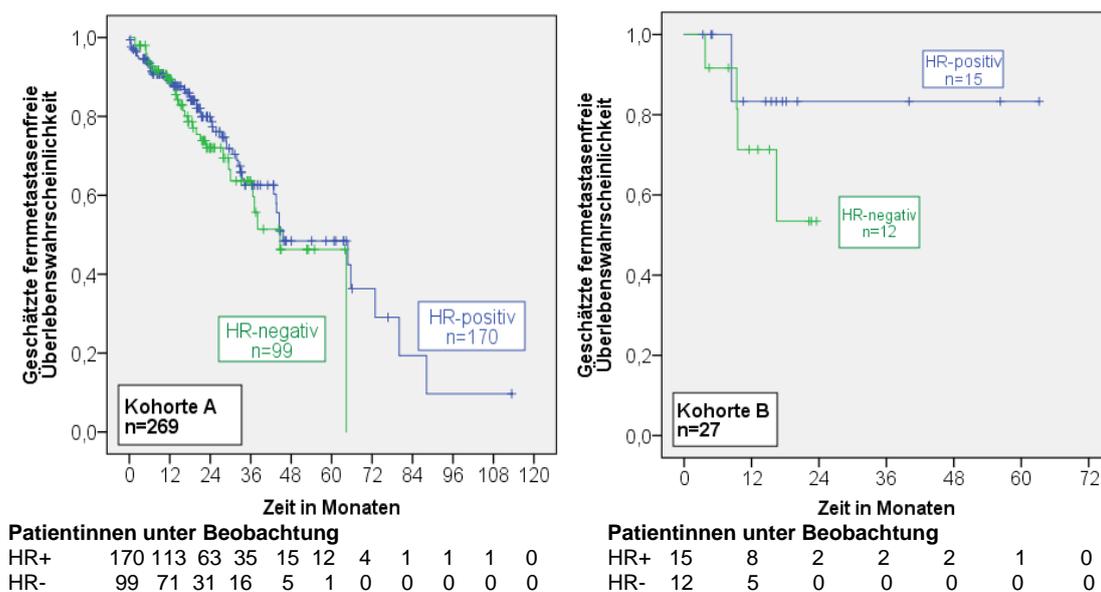


Abb. 5: Kaplan-Meier-Analyse für Kohorte A und B bezüglich des HR-status (HR+ – Steroidhormonrezeptor-positiv, HR- - Steroidhormonrezeptor-negativ)

In einer Sensitivitätsanalyse wurde untersucht, ob sich die Zensierungen der Patientinnen mit unterschiedlichem HR-status unterscheiden (siehe 3.3.4). Es konnte jedoch kein Unterschied hinsichtlich der Zeitpunkte der Zensierung zwischen beiden Gruppen festgestellt werden.

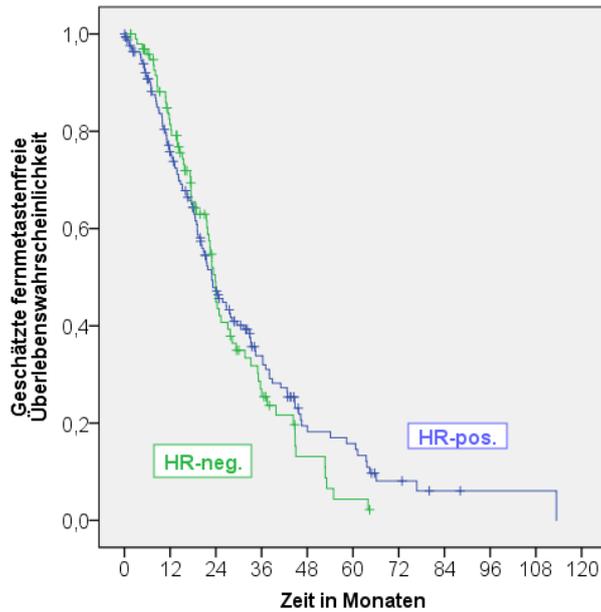


Abb. 6: Zeitlicher Verlauf der Zensierungen HR-pos. und HR-neg. Patientinnen in Kohorte A
(HR-pos. – Steroidhormonrezeptor-positiv, HR-neg. - Steroidhormonrezeptor-negativ)

Einfluss der immunhistochemischen Typen auf die fernmetastasenfreie Überlebenswahrscheinlichkeit

24 Tumorblöcke konnten für die Überlebenszeitanalyse immunhistochemisch wie folgt eingeteilt werden: HR-pos./HER2-neg., HR-pos./HER2-pos., HER2-pos. und Tripel-negativ (siehe 3.3.1).

Die vier HR-pos./HER2-pos. Patientinnen blieben während des Beobachtungszeitraums alle fernmetastasenfrei. Von den vier HER2-pos. Patientinnen wurde bei einer Patientin nach zehn Monaten Metastasen festgestellt. In der Gruppe der HR-pos./HER2-neg. Patientinnen entwickelten zwei Patientinnen jeweils nach acht Monaten Fernmetastasen. Das schlechteste Outcome bei der fernmetastasenfreien Überlebenszeit hatten die Patientinnen mit tripel-negativen Karzinomen (Fernmetastasen wurden bei drei Patientinnen jeweils nach vier, neun und 16 Monaten festgestellt) (Abb.7).

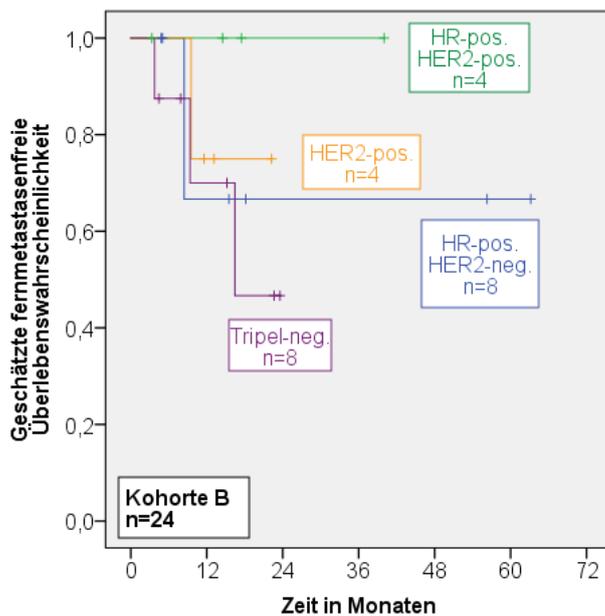


Abb. 7: Kaplan-Meier-Analyse für Kohorte B bezüglich der immunhistochemischen Klassifizierung
(HR – Steroidhormonrezeptoren, HER2 - Human epidermal growth factor receptor 2, pos. – positiv, neg. - negativ)

5 Diskussion

5.1 Zusammenfassung und Hauptergebnisse

Diese Dissertation untersuchte das immunhistochemische Profil von Mammakarzinomen in Äthiopien. Es wurde der vor Ort bestimmte HR-status (ER und PR) in insgesamt 337 Fällen retrospektiv aus Patientenakten ausgewertet (Kohorte A). Zum Vergleich (jedoch ohne der Möglichkeit eines individuellen Vergleichs) wurden zusätzlich 31 Fälle durch ein Referenzlabor in Deutschland bestimmt und es fand eine erweiterte immunhistochemische Analyse statt (Kohorte B: Bestimmung von ER, PR, HER2, Ki-67, EGFR und CK 5/6).

In beiden Kohorten zeigten sich ähnliche klinische und pathologische Merkmale: vor allem jüngere (≤ 49 Jahre) Frauen mit hauptsächlich duktalem Grade-2-Karzinom und mit involvierten Lymphknoten wurden gefunden. Das Material für die pathologischen Diagnosen stammte in Kohorte A in 35% der Fälle von Zellen der FNAC, in Kohorte B ausschließlich von Operationsresektaten.

Es konnte gezeigt werden, dass mehr als die Hälfte der Fälle HR-positiv waren und knapp ein Drittel positiv für HER2 (32%). Der Anteil tripel-negativer Tumore lag bei 32%. Jüngere Patientinnen, fortgeschrittenere und duktales Karzinome tendierten zu einem erhöhten Risiko der HR-negativität.

Die fernmetastasenfreie Überlebensrate in Kohorte A betrug 89% nach einem und 77% nach zwei Jahren. Ein Unterschied zwischen HR-positiven und HR-negativen Patientinnen in Bezug auf das fernmetastasenfreie Überleben konnte nicht ermittelt werden. Tripel-negative Tumore hatten im Vergleich zu den anderen immunhistochemischen Typen das schlechteste Überleben (1-Jahres-Überlebensrate: 70%).

Patientinnen aus Addis Abeba, fortgeschrittene Tumorstadien und nicht-duktales Histologie zeigten einen Trend für ein erhöhtes Risiko Fernmetastasen zu entwickeln.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Östrogen-, Progesteron- und Hormonrezeptorstatus

Die wissenschaftlichen Publikationen zum HR-status von Brustkrebs in Ländern mit niedrigen und mittleren Einkommen haben in den letzten Jahren stark zugenommen. Aber lediglich zwei Publikationen zum Thema HR-status aus oder über Patientinnen in Äthiopien konnten gefunden werden (Kantelhardt et al. 2014b; Jiagge et al. 2016).

Vergleich mit anderen afrikanischen Ländern

Betrachtet man Veröffentlichungen aus anderen ostafrikanischen Gebieten, zeigt die Mehrzahl der Studien einen wesentlich höheren Anteil ER-negativer Fälle als die Ergebnisse meiner Analyse (Kohorte A: 38%, Kohorte B: 52%). Dies gilt z.B. für eine Studie aus Kenya, in welcher 76% der Fälle ER-negativ und 66% als negativ für sowohl ER als auch PR dargestellt wurden (Bird et al. 2008). Weitere Beispiele sind eine frühere Studie aus Tansania, in der 67% als ER-negativ und über 80% als PR-negativ bestimmt wurden (Mbonde et al. 2001) und eine neuere Veröffentlichung aus Tansania, in der der Anteil HR-negativer Fälle bei 52% lag (Amadori et al. 2014). In den bisherigen Veröffentlichungen aus Äthiopien lag der Anteil ER-negativer Fälle bei 35% (Kantelhardt et al. 2014a) und 29% (Jiagge et al. 2016) (Tab. 13).

Tab. 13: Ostafrika: Auswahl an Veröffentlichungen zum HR-status

Region	Anzahl n der untersuch- ten Fälle	Zeitraum der Datener- hebung	ER- negativ in %	Autor
Ostafrika				
Kenia	120	2001-2007	76	(Bird et al. 2008)
Tansania	60	1995-1997	67	(Mbonde et al. 2001)
Uganda	65	1993-2002	65	(Nalwoga et al. 2007)
Tansania	69	2003-2010	52	(Amadori et al. 2014)
Äthiopien	352	2005-2010	35	(Kantelhardt et al. 2014a)
Äthiopien	94	1998-2014	29	(Jiagge et al. 2016)

(Pubmed-Recherche am 6.10.2015 mit den Suchbegriffen „AFRICA“, „BREAST CANCER“ und „HORMONE RECEPTOR“ oder „ESTROGEN RECEPTOR“, erweitert mit Jiagge et al. 2016)

(ER – Östrogenrezeptor, et al. – et alii)

Auch in Westafrika findet man hauptsächlich einen hohen Anteil ER-negativer Patientinnen (Tab. 14). In Nigeria und Senegal wurde auf der Basis von 507 Brustkrebspatientinnen der Jahre 1996 bis 2007 bei 76% ein negativer ER-Status ermittelt (Huo et al. 2009). Noch deutlicher wurde es in der Studie von Ugiagbe et al. aus Nigeria aus dem Jahr 2012, die feststellte, dass 83% negativ für den ER waren (Ugiagbe et al. 2012). Auch Studien mit Populationen aus Mali und Uganda zeigten die gleiche Tendenz (Roy und Othieno 2011; Ly et al. 2012). Lediglich eine Studie aus Kenia (Sayed et al. 2014) und eine aus Nigeria (Adebamowo et al. 2008) verwiesen auf geringere Anteile HR-negativer Tumore.

Tab.14: Westafrika: Auswahl an Veröffentlichungen zum HR-status

Region	Anzahl n der untersuchten Fälle	Zeitraum der Datenerhebung	ER-negativ in %	Autor
Westafrika				
Nigeria	135	2003-2007	83	(Ugiagbe et al. 2012)
Ghana	147	n.a.	79	(Proctor et al. 2015)
Nigeria/Senegal	507	1996-2007	76	(Huo et al. 2009)
Ghana	75	2007-2008	76	(Stark et al. 2010)
Ghana	100	2006-2011	75	(Pang et al. 2012)
Ghana	51	2007-2010	76	(Adjei et al. 2014)
Ghana	74	2004-2007	67	(Yarney et al. 2008)
Mali	114	2008-2011	61	(Ly et al. 2012)
Uganda	45	2000-2004	60	(Roy und Othieno 2011)
Ghana	68	2004-2009	53	(Ohene-Yeboah und Adjei 2012)
Nigeria	133	2004-2005	35	(Adebamowo et al. 2008)
Kenia	301	2011-2013	27	(Sayed et al. 2014)

(Pubmed-Recherche am 6.10.2015 mit den Suchbegriffen „AFRICA“, „BREAST CANCER“ und „HORMONE RECEPTOR“ oder „ESTROGEN RECEPTOR“)
(ER – Östrogenrezeptor, et al. – et alii, n.a. – nicht angegeben)

Eine Metaanalyse von insgesamt 80 Studien mit insgesamt 17.021 Patientinnen aus Afrika zum Thema ER, PR sowie HER2 (Eng et al. 2014) beschrieb die z.T. sehr unterschiedliche Angaben zum Rezeptorstatus in afrikanischen Ländern. Hier wurde über sehr heterogene Angaben der einzelnen Studien und prozentuale Anteile ER-positiver Tumore von 40-80% in Nordafrika bzw. 20-70% in den Südsaharagebieten berichtet. Unabhängig von der Region ermittelten die Autoren einen Anteil ER-positiver Fälle von 59% (95%KI 56-62%) unter prospektiv-gesammelten Daten.

Vergleich mit Ländern mit höherem Einkommen

Diese Metaanalyse von Eng et al. (2014) beschrieb auch, dass beim Vergleich der Ergebnisse von prospektiv gesammelten Tumorblöcken aus Afrika mit denen schwarzer US-Amerikanerinnen der gleiche Anteil ER-positiver Fälle gefunden wurde (0,64). Die Daten der schwarzen US-Amerikanerinnen stammten dabei aus dem Nationalen Krebsregister der USA (National Cancer Institute, NCI; Surveillance, Epidemiology and End Results, SEER).

Stark et al. analysierten Brustkrebspatientinnen aus Ghana, Afroamerikanerinnen und weiße Amerikanerinnen resultierend in Anteilen an ER-positiven Tumoren von 24%, 64% und 78%. Allerdings waren die Unterschiede weniger gravierend, nachdem für einen höheren Stage adjustiert wurde (Stark et al. 2010).

Auch in einer Studie aus den USA, in der weiße und schwarze in den USA geborene Frauen und US-Amerikanerinnen afrikanischer bzw. jamaikanischer Abstammung untersucht wurden, gab es deutliche Unterschiede zwischen den Patientinnen. Die Patientinnen afrikanischer Herkunft zeigten einen höheren prozentualen Anteil ER-negativer Tumoren als weiße US-Amerikanerinnen (22% Ostafrika, 33% Westafrika, 29% Jamaika, 31% USA-Schwarze, 18% USA-Weiße). Es wird aber auch deutlich – ebenso wie bei den Ergebnissen meiner Berechnungen aus Äthiopien – dass die Prävalenzen der ER-negativen Tumoren ostafrikanischer Patientinnen geringer waren als die Westafrikanischer und zu den Ergebnissen US-amerikanischer Weißer tendierten (Jemal und Fedewa 2012).

Die bereits erwähnte Veröffentlichung von Jiagge et al. (2016) publizierte ebenfalls Daten zum Vergleich der Brustkrebsphänotypen von ostafrikanischen (aus Äthiopien), westafrikanischen (aus Ghana) sowie von weißen und schwarzen US-Amerikanerinnen. Die immunhistochemische Rezeptorbestimmung erfolgte dabei für alle Fälle in zertifizierten Laboren in den USA. Es wurde bestätigt, dass ER-negative Tumoren (71% unter Westafrikanerinnen, 37% unter Afroamerikanerinnen vs. 20% unter weißen Amerikanerinnen, 29% unter Äthiopierinnen) sowie tripel-negative Brustkrebstypen (53% und 30% vs. 16% und 15%) weitaus häufiger bei Afroamerikanerinnen und Westafrikanerinnen auftraten (Jiagge et al. 2016).

5.2.2 Verteilung des Anteils an ER- und/oder PR-negativen Tumoren in klinischen und pathologischen Gruppen in Kohorte A und B

Durch die geringe Fallzahl in Kohorte B war es nicht sinnvoll, Kohorte A und B mittels statistischer Tests auf Unterschiede in den klinischen und pathologischen Merkmalsverteilungen zu prüfen. Eine gesicherte Aussage, ob Kohorte B als repräsentative Stichprobe der Kohorte A gewertet werden kann, ist dadurch schwierig.

Eindeutig ist aber die Tatsache, dass beide Kohorten sich aus klinisch-pathologischer Sicht gut in die bisherigen Erkenntnisse zu Mammakarzinomen in Afrika einpassten: u.a. junges Diagnosealter, sowie fortgeschrittene Tumorgröße und -stadium bei Diagnose (Eng et al. 2014). Ausgenommen werden muss das Grading, da vor allem in Westafrika über einen höheren Anteil an high-grade-Tumoren (G3: 54%-78%) – im Gegensatz zu meinen Ergebnissen (G3: Kohorte A: 31%, Kohorte B: 41%) - berichtet wurde (Ly et al. 2012; Ohene-Yeboah und Adjei 2012).

84% der Patientinnen aus Kohorte A waren Teil einer Publikation aus Äthiopien und die Proportionen ihrer Merkmale sind jenen aus der Studie ähnlich. In dieser Studie waren ebenfalls mehr als 50% prämenopausale, junge (< 40 Jahre) Patientinnen mit vor allem duktalem, fortgeschrittenen (pN+ 81%, Stage 3: 50%) Grade-2-Tumoren vertreten (Kantelhardt et al. 2014a).

In Kohorte A traten als zweithäufigste histologische Gruppierung die lobulären Karzinome (7%) auf. Dies entspricht ebenfalls den Häufigkeitsverteilungen bisheriger Erkenntnisse aus Äthiopien (Kantelhardt et al. 2014a).

Im Vergleich zu Daten weißer Bevölkerungsgruppen aus den USA zeigte sich, dass die Patientinnen aus der vorliegenden Analyse zum Diagnosezeitpunkt jünger waren und fortgeschrittenere Tumorstadien sowie high-Grade-Karzinome häufiger vertreten waren. Dieses Bild konnte bereits in mehreren afrikanischen Studien bestätigt werden (Eng et al. 2014). Ursache ist vor allem die junge Bevölkerungsstruktur in Äthiopien.

5.2.3 Einflussfaktoren auf die Hormonrezeptornegativität

Es ist bekannt, dass ER-negativität mit der Tumorgröße, dem Grading (Putti et al. 2005) und jüngerem Alter (Anders et al. 2008) korreliert. Die Metaanalyse (Eng et al. 2014) ermittelte weiterhin Herkunft Westafrika und retrospektives Studiendesign als wesentliche Einflussfaktoren auf die HR-negativität von Mammakarzinomen in Afrika. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung ergaben für HR-negative Patientinnen ebenso erhöhte Risiken für ein fortgeschrittenes Tumorstadium wie für ein jüngeres Alter. Sowohl lobuläre als auch duktales Karzinome hatten ein erhöhtes Risiko für ER-negativität im Vergleich zu anderen histologischen Typen. Allerdings war bis auf das erhöhte Risiko der duktales Karzinome keines der berechneten Ergebnisse signifikant, wodurch ein zufälliger Unterschied nicht ausgeschlossen werden kann. Lobulär invasive Karzinome wurden in früheren Studien mit einer geringeren Wahrscheinlichkeit für ER-negativität beschrieben (Christgen et al. 2016).

Zusammenfassend bestätigte die Verteilung klinischer, pathologischer und immunhistochemischer Eigenschaften der Brustkrebsphänotypen der vorliegenden Auswertung das Bild der bisherigen spärlichen Angaben aus der Literatur. Der Anteil HR-negativer Fälle der untersuchten äthiopischen Patientinnen war zwar niedriger als in anderen afrikanischen Ländern, jedoch immer noch höher als in „westlichen Industrienationen“.

Auch in der o.g. Metaanalyse von Eng et al. wurde festgestellt, dass afrikanische im Vergleich zu westlichen Frauen bei Diagnosestellung ein jüngeres Alter, ein fortgeschritteneres Tumorstadium und ein höheres Grading hatten. Diese Faktoren standen im Zusammenhang mit einem größeren Anteil ER-negativer Fälle. Studien mit mindestens 40% Patientinnen mit high-Grade-Tumoren (Grade 3) hatten ca. 9% weniger ER-positive Ergebnisse als jene mit weniger als 40% Grade-3-Patientinnen (Eng et al. 2014). Zahlreiche Studien haben ebenso bereits beschrieben, dass Brustkrebsphänotypen jüngerer Patientinnen häufiger ein fortgeschritteneres und aggressiveres Verhalten, sowie eine Tendenz zur ER-negativität zeigten (Shannon und Smith 2003; Anders et al. 2008). Die Unterschiede im HR-status zwischen Ländern mit hohen bzw. niedrigen Einkommen könnte von daher auch durch die jüngere Altersstruktur der Bevölkerung in zweitgenannten, das spätere Vorstellen beim Arzt und den begrenzteren Zugang zu medizinischen Leistungen hervorgerufen werden, denn aus diesen Faktoren resultiert ein höherer Anteil fortgeschrittenerer Tumorstadien. Wenn diese also assoziiert mit dem Auftreten ER-negativer Fälle sind, könnte der hohe Anteil in den sogenannten „Entwicklungsländern“ erklärt werden. Die Autoren vermuteten sogar, dass die Verteilung des HR-status durch diese Faktoren und nicht durch die Herkunft und den Unterschied zwischen weißer und schwarzer Bevölkerung bedingt sein könnte (Eng et al. 2014).

5.2.4 HER2-status, immunhistochemische Typen und weitere immunhistochemische Marker

In der Metaanalyse von Eng et al. 2014 wurden Anteile von HER2-positiven Tumoren zwischen 0,14 und 0,59 in Nordafrika und 0,04 und 0,39 in den Südsaharagebieten festgehalten. Mein Ergebnis mit 32% HER2-positiven Fällen stimmte daher mit diesen Angaben überein. Studien aus Westafrika beschrieben dabei weniger HER2-positive Fälle (Yarney et al. 2008, Sayed et al. 2014, Proctor et al. 2015) und ein häufigeres Auftreten tripel-negativer Brustkrebsphänotypen (Huo et al. 2009). Ostafrikanische Studien beschrieben Anteile von 27% (Bird et al. 2008) und 26% (Amadori et al. 2014). Bei der Studie von Jiagge et al. 2016 war die HER2-Expression bei den Äthiopierinnen mit 33% signifikant höher als in den Vergleichspopulationen aus Ghana und den USA.

Eng et al. 2014 beschrieben auch beim HER2-Status eine große Heterogenität zwischen den einzelnen Studien.

Ein Unterschied in der Verteilung nach geographischen Regionen ließ sich in dem Sinne ermitteln, dass Studien aus Westafrika die niedrigsten Anteile an HER2-positivem Brustkrebs hatten und Studien aus Südafrika die höchsten (Eng et al. 2014).

Immunhistochemische Typen

Tripel-negative Mammakarzinome äthiopischer Frauen wurden in bisherigen Studien mit ca. 16% angegeben. Sie hatten damit eine ähnliche Häufigkeit wie die weißer US-Amerikanerinnen (Jiagge et al. 2016). In der bereits erwähnten Metaanalyse von Eng et al. wurde eine Quote von tripel-negativen Karzinomen von 0,21 (0,17-0,25) für ganz Afrika berechnet. Diese lag ebenfalls geringfügig höher als bei der weißen Bevölkerung und ungefähr gleich hoch wie bei schwarzen US-Amerikanerinnen. Ein dominierender immunhistochemischer Typ wurde nicht benannt (Eng et al. 2014). Westafrikanische Studien beschrieben weitaus höhere Anteile tripel-negativer Karzinome (Huo et al. 2009; Stark et al. 2010).

Weitere immunhistochemische Marker (Ki-67, EGFR, CK 5/6)

Der Proliferationsmarker Ki-67 wurde bisher in nur wenigen Studien aus Afrika erwähnt. Auch in Deutschland diskutiert man über die zu verwendenden cut-off-Werte für entsprechende Therapieanpassungen. Bis jetzt gelten Werte unter 10% und über 20% als möglich (Kantelhardt et al. 2012).

So gesehen ist das heterogene Bild an Studienergebnissen nicht verwunderlich. Eine Studie aus Mali berechnete Prävalenzen von 76% an Tumoren mit Ki-67-Überexpression (positiv, wenn >20% der Zellen angefärbt) (Ly et al. 2012), eine aus Ägypten nur 15% (positiv, wenn > 1% der Zellen angefärbt) (Salhia et al. 2011) und eine aus Uganda 21% (wenn > 15,4% der Zellen angefärbt) (Nalwoga et al. 2008).

Bei einer Fallzahl von n=26 waren knapp 73% meiner Fälle zumindest mäßig positiv (> 14% der Zellen angefärbt).

Auch der EGFR wurde in der Studie von Nalwoga et al. (2008) in Uganda untersucht, mit dem Ergebnis, dass ca. 23% positiv waren. Bei wenig differenzierten, ER-negativen Tumoren waren die Anteile höher (Nalwoga et al. 2008). In älteren Publikationen wurden EGFR-positive Mammakarzinome häufig mit ca. 30-40% genannt (Nicholson et al. 1994; Walker und Dearing 1999).

CK 5/6 wurde in einer Studie aus Uganda berechnet und war in 26% der Fälle positiv (Staining-Index ≥ 1). Mein Ergebnis lag weitaus höher (Ck5/6 positiv: 48%, n=29). Die Autoren fassten auch andere Studien zum Thema CK 5/6 und basal-like-Phänotypen zusammen und kamen auf einen Anteil von 34% (Nalwoga et al. 2007). Allerdings wurden hierbei nur die basal-like-Phänotypen eingeschlossen.

5.2.5 Fernmetastasenfreies Überleben

Die meisten wissenschaftlichen Publikationen zum Thema Brustkrebs in afrikanischen Ländern berechnen das Gesamtüberleben. Das 5-Jahres-Gesamtüberleben anderer Regionen weltweit reicht von ca. 90% in westlichen Industrienationen bis zu 46% in Uganda, 39% in Algerien und 12% in Gambia (Youlden et al. 2012; Kantelhardt et al. 2014a).

Einfluss auf das fernmetastasenfreie Überleben (Cox-Regressionsanalyse)

Patientinnen mit fortgeschrittenen Tumorstadien, die Herkunft aus Addis Abeba, sowie invasiv-lobuläre Karzinome wiesen einen Trend zu erhöhten Risiken für das Auftreten von Fernmetastasen auf. Auch hier ist zu bemerken, dass sich keines der Ergebnisse, als signifikant darstellte. Dass das Tumorstadium positiv mit Fernmetastasen korrelierte, ist plausibel, da bei Tumorprogress die Wahrscheinlichkeit für Metastasen steigt. Invasiv-lobuläre Karzinome sind assoziiert mit einer höheren Wahrscheinlichkeit für HR-positivität und HER2-negativität (Christgen et al. 2016), was den Erwartungen zufolge – unter entsprechender Therapie - zu einer Verbesserung des fernmetastasenfreien Überlebens geführt haben sollte. Die tatsächliche Tamoxifeneinnahme der Patientinnen wurde nicht kontrolliert. Dies könnte Einfluss auf mein Ergebnis gehabt haben.

Patientinnen, die aus Addis Abeba stammten, sind in dieser Untersuchung im Vergleich zur Bevölkerungsverteilung in Äthiopien überrepräsentiert. Ca. 97% der äthiopischen Bevölkerung leben auf dem Land und haben im Vergleich zur Bevölkerung in der Stadt ein geringeres Einkommen und einen schwierigeren Zugang zum Gesundheitssystem. Es ist davon auszugehen, dass die Gruppe an Patientinnen vom Land mit schlechterer Prognose (wahrscheinlich fortgeschrittenes Tumorstadium bei Erstkontakt im Krankenhaus, unzuverlässigere Compliance, etc.) in diesen Kohorten fehlen (Kantelhardt et al. 2014a). Das Ergebnis, dass Patientinnen aus Addis Abeba ein erhöhtes Risiko für Fernmetastasen hatten, wäre somit fälschlicherweise zu hoch.

Einfluss des HR-status auf das metastasenfreie Überleben

Patientinnen mit HR-positiven Tumoren profitieren von einer endokrinen Therapie (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG) 1998). Die HR-positiven Patientinnen meiner Untersuchung hatten ebenfalls die Möglichkeit der Tamoxifeneinnahme. Einen Einfluss des HR-status auf das fernmetastasenfreie Überleben konnte ich nicht feststellen. Eine zusätzliche Sensitivitätsanalyse untersuchte den zeitlichen Verlauf der Zensierungen in beiden Gruppen (siehe 4.5.2). Es zeigte sich kein Unterschied im Anteil zensierter Fälle im zeitlichen Verlauf. Somit beeinflusste das Merkmal „HR-status“ nicht die Zensierung. Dies hätte ein Bias sein können. In Ländern mit begrenzten Ressourcen kommt es häufig vor, dass die Patientinnen aus finanziellen Gründen nicht zum vereinbarten Wiedervorstellungstermin erscheinen oder die Behandlung abbrechen. Dieses Verhalten scheint sowohl bei HR-positiven als auch bei HR-negativen Patientinnen vorzukommen.

Ein Grund für den unerwartet geringen Unterschied zwischen den fernmetastasenfreien Überlebensraten von HR-positiven und –negativen Patientinnen könnte die unzuverlässige Einnahme des Tamoxifen sein. Das Medikament wurde den Patientinnen kostenlos zur Verfügung gestellt, auch um einen zusätzlichen Anreiz für eine regelmäßige Wiederkehr zu den vereinbarten Arztterminen zu schaffen. Ob eine regelmäßige Einnahme stattgefunden hat, konnte allerdings nicht überprüft werden. Bei zukünftigen Studien sollte daher dringend auf die tatsächliche Medikamenteneinnahme geachtet bzw. diese mit erfasst werden.

Als weitere Ursache könnte man ebenfalls falsch bestimmte Rezeptoren vermuten, da die pathologischen und immunhistochemischen Abläufe in den äthiopischen Laboren zwar nach vorgeschriebenem Protokoll, aber nicht wie in Deutschland in zertifizierten Referenzlaboren stattfanden (siehe 5.3.1).

Ebenso sind zugunsten höherer Fallzahlen z.T. unterschiedliche Startpunkte für die fernmetastasenfreie Überlebenszeit angenommen worden. Wie in 3.3.4 beschrieben, wurde bei den Patientinnen, bei welchen das genaue erste Diagnosedatum (festgestellt durch FNAC oder Operation) nicht vorlag, das Datum der endgültigen pathologischen Diagnose genutzt. Dieses Datum war häufig das Datum der immunhistochemischen HR-bestimmung. Lag auch dieses nicht vor, wurde das Datum der Patientenakte genutzt. Weiterhin ist es möglich, dass die Zeitangaben, welche durch Aussagen der Patientinnen und nicht durch eine ärztliche Feststellung im Krankenhaus aufgenommen wurden, eine gewisse zeitliche Varianz enthielten. So ist es ein bekanntes Problem, dass sich beispielsweise Altersangaben von äthiopischen Patientinnen mit zunehmenden Jahren nur unverhältnismäßig verändern und genaue

Geburtsdaten nicht existieren. Der Einfluss dieses Vorgehens sollte allerdings gering sein, denn sie wurden sowohl bei HR-positiven als auch -negativen Patientinnen angewandt.

Der HR-status von Brustkrebspatientinnen kann sich im Verlauf der Erkrankung verändern. In der vorliegenden Arbeit wurde nicht zwischen Primärtumor und Rezidiv unterschieden und eine mehrmalige Rezeptorbestimmung wurde nicht dokumentiert. Sollte es also zu einer Änderung der immunhistochemischen Marker gekommen sein, wurde die Therapie nicht angepasst, was ebenfalls zur Verschiebung der Überlebenskurven beigetragen haben könnte. Allerdings muss hier erwähnt werden, dass der Anteil HR-negativer Tumoren mit dem Fortschreiten der Erkrankung eher zunimmt, wodurch diese Patientinnen auch nicht von einer zusätzlichen endokrinen Therapie profitieren würden (Thompson et al. 2010).

5.3 Diskussion der Methoden

5.3.1 Qualität des zu analysierenden Materials und immunhistochemische Verfahren

Die Daten für Kohorte A wurden aus den Krankenakten des Universitätskrankenhauses in Addis Abeba erhoben. Die Verarbeitung der FFPE-Proben erfolgte nach einem vorgeschriebenen Protokoll in Addis Abeba (keine Zertifizierung). Bei einem Teil der Fälle (n= 110, 35%) wurde die pathologische Diagnose mittels FNAC erhoben. Sie waren häufiger HR-negativ. Trotz, dass die FNAC nicht der Goldstandard zur Erfassung des HR-status ist, konnte in Studien gezeigt werden, dass die Ergebnisse durchaus jenen der Bestimmung aus Tumorböcken entspricht (Skoog et al. 1990; Tafjord et al. 2002; Domanski et al. 2013).

In Kohorte B zeigte sich eine mehrheitlich nicht ausreichende Qualität des Materials bei der Vorauswahl der Blöcke für die immunhistochemischen Färbungen. Eine größere Anzahl (n= 68) konnte nicht analysiert werden. Diese Qualitätsprobleme könnten auch bei der Färbung in Addis Abeba einen Einfluss auf die Auswertung des HR-status der Kohorte A gehabt haben. Es ist bekannt, dass die Rezeptordegredierung sehr früh einsetzt, wenn das Material nicht zeitnah formalin-fixiert wird (Khoury et al. 2009). Das bedeutet, die präanalytischen Abläufe im Sinne von zu später, inadäquater oder prolongierter Fixation, die Auswahl des Fixierungsmittels, die Paraffinqualität oder die Dehydrierungsabläufe spielen eine wichtige Rolle. Es gilt aber, dass das Mammanormalgewebe als gute interne Kontrolle diene. Sollten die Rezeptoren wegen Qualitätsproblemen degradiert gewesen sein, dann wäre das normale Mammagewebe auch nicht angefärbt und die Probe somit nicht beurteilbar gewesen.

Der ursprünglich angedachte individuelle Vergleich immunhistochemischer Analysen der jeweils gleichen Tumorproben in Äthiopien und Deutschland (Kohorte B) konnte aufgrund prozessualer Hindernisse bei der Identifikation der nach Deutschland zu sendenden Tumorblöcke nicht durchgeführt werden. Der hohe Anteil anderer histologischer Diagnosen (siehe 3.1, Abb.1) war häufig aber nicht einer tatsächlichen Fehldiagnose der Pathologen in Äthiopien zuzuschreiben, sondern der falschen Tumorblokauswahl aus den Archiven (Problem der Zuordnung, Schreibfehler der Block-Nummer, etc). Von daher konnten die in Kohorte B verwendeten pathologischen und immunhistochemischen Angaben zu den Blöcken mit Mammakarzinomgewebe trotzdem verwertet werden. Nichtsdestotrotz konnten die Tumorblöcke von Patientinnen, deren HR-status bereits aus den Patientenakten dokumentiert worden war, in den meisten Fällen nicht gefunden werden. Und andersherum konnten die ursprünglich nach Deutschland gesendeten Blöcke nicht noch einmal in Äthiopien bestimmt werden, da zu diesem Zeitpunkt im dortigen Labor keine immunhistochemische Analyse stattfand. Eine vergleichende Aussage über die Qualität der äthiopischen immunhistochemischen Laborarbeit konnte somit nicht getroffen werden. Eine Vergleichsanalyse der Ergebnisse der örtlichen Pathologie mit einem deutschen Referenzlabor und eine Standardisierung der pathologischen Abläufe sind aber dringend nötig und sollten in zukünftigen Studien unbedingt beachtet werden. Durch die o.g. Problematik stellte die geringe Fallzahl der Kohorte B eine entscheidende Limitation meiner Arbeit dar, welche zu einer geringen Präzision meiner Ergebnisse führte. Deshalb konnten lediglich erste Schätzungen der Verteilungen klinischer, pathologischer und immunhistochemischer Eigenschaften in Kohorte B gegeben werden.

5.3.2 Retrospektive Erhebung der Daten

Die Sichtung der Krankenakten für die Dokumentation der klinischen und pathologischen Eigenschaften, sowie des Krankheitsverlaufes erfolgte in Zusammenarbeit mit Herrn Peter Zerche.

Durch die zum Teil unübersichtliche, schwierig zu lesende und unvollständige Dokumentation in den Krankenakten erwies sich die Datenerhebung als sehr kompliziert. Deswegen und der Tatsache geschuldet, dass sie von zwei verschiedenen Personen durchgeführt wurde, konnten Fehler und Inkonsistenzen nicht ausgeschlossen werden.

In der Metaanalyse von 80 Studien zum Thema HR-status in afrikanischen Ländern von Eng et al. des Jahres 2014 wurde berichtet, dass retrospektiv untersuchtes im Gegensatz zu prospektiv gesammeltem Material eine geringere ER-expression

aufzeigte, da es durch die Aufbewahrung der Tumorblöcke zur Antigendegradierung kommen kann. Es wurde ein geringerer Anteil von 10% (4-17%) angegeben (Eng et al. 2014). Da die Ergebnisse von Kohorte A durch die Routineabläufe des Krankenhauses bestimmt wurden, halte ich die Aufbewahrungszeit und die damit verbundenen Gewebeveränderungen für gering. Für Kohorte B stand fest, dass von der Entnahme des Gewebes bis zur Auswertung in Deutschland eine Zeitspanne von mehreren Monaten verging, was laut o.g. Studie zu falsch-hohen Anteilen ER-negativer Ergebnisse geführt haben könnte.

5.4 Schlussbetrachtung und Ausblick

Die vorliegende Arbeit sollte einen Beitrag zur verbesserten Behandlung von Brustkrebs in Äthiopien leisten. Ihre Daten wurden zum Teil bereits publiziert (Kantelhardt et al. 2014a).

Beschäftigt man sich generell mit der Datenlage zum Thema Brustkrebs aus afrikanischen Ländern, wird deutlich, dass es erstens an Studien mangelt, die aus den betroffenen Ländern selbst stammen, zweitens zu wenig transparente, replizierbare methodische Strategien angewendet wurden und drittens mehr systematische, hochqualitative Studiendesigns genutzt werden sollten. Um evidenz-basierte Empfehlungen für Versorgungsleitlinien auch in Low-resource-Settings zu kreieren und damit langfristig Mortalität und Morbidität zu senken, braucht es darum dringend mehr qualitativ-hochwertige Studien in den betroffenen Regionen (Demment et al. 2015). Als Ausblick dieser Arbeit kann festgehalten werden, dass sich dringend weitere Studien zum Thema HR-status anschließen sollten und dabei vor allem auf eine zuverlässige Medikamenteneinnahme sowie auf replizierbare, standardisierte labortechnische Abläufe geachtet werden sollte. Denn die Unterschiede in den Rezeptorexpressionen der einzelnen Länder Afrikas könnten einerseits hervorgerufen werden durch die natürliche Populationsdiversität (genetische Faktoren, Umweltfaktoren, Lebensstile, etc.), andererseits könnte sie aber auch ein Hinweis auf fehlende standardisierte Methoden bei den immunhistochemischen Prozeduren, Antigendegeneration oder Fehler bei der Probandenauswahl sein (Kantelhardt et al. 2014b).

Erwähnenswert und ein Schritt in die richtige Richtung ist hierbei das Aira-Tamoxifenprojekt im ländlichen Äthiopien, welches aus der langjährigen Zusammenarbeit zwischen dem Universitätskrankenhaus in Addis Abeba und der Klinik für Gynäkologie des Universitätskrankenhaus Halle entwickelt werden konnte. In diesem Projekt wird die Compliance zwecks Medikamenteneinnahme dokumentiert und die immunhistochemische Bestimmung der Tumorproben erfolgt in Deutschland.

In Ländern mit begrenzten Ressourcen gibt es häufig nicht die Möglichkeit, jede Patientin individuell auf ihren Rezeptorstatus zu testen. So wird häufig auch aus Kostengründen schließlich gar keiner Patientin eine endokrine Therapie empfohlen. Trotz der Empfehlungen der „Breast Health Global Initiative“ (Anderson et al. 2006) gehört die Bestimmung des HR-status auch in Äthiopien noch nicht zum klinischen Alltag. Eine generelle Bestimmung des HR-status bei jeder Patientin, sowie dessen standardisierte Registrierung und Auswertung sollte zu einer der oberen Prioritäten in der onkologischen Versorgung gehören und konsequenter umgesetzt werden. Vor allem junge Frauen mit Brustkrebs in noch niedrigen Tumorstadien sollten getestet werden, da für sie der Benefit einer endokrinen Therapie am größten wäre (Eng et al. 2014). Solange jedoch der HR-status noch nicht generell bestimmt werden kann, unterstützt die vorliegende Arbeit die Schlussfolgerung der Studie von Eng et al. 2014, dass in diesem Fall von einer mehrheitlichen Rezeptorpositivität in Äthiopien ausgegangen werden sollte. Eine endokrine Therapie mit Tamoxifen ist dann für die Patientinnen mit unbekanntem Rezeptorstatus zu empfehlen.

6 Zusammenfassung

Der HR-status von Brustkrebspatientinnen ist ein wichtiger und anerkannter prognostischer und prädiktiver Marker. Seine Bestimmung gehört in Deutschland zur leitliniengerechten Diagnostik, um eine möglichst individuelle Therapie zu ermöglichen. In Ländern mit begrenzten Ressourcen wie Äthiopien gehört dies bis dato jedoch nicht zur alltäglichen Klinikroutine.

Diese Arbeit untersuchte retrospektiv den HR-status von 337 Brustkrebspatientinnen aus Äthiopien und bestimmte zusätzliche immunhistochemische Marker an 31 Tumorproben in einem deutschen Referenzlabor (ER, PR, HER2, Ki-67, EGFR, Ck5/6).

Die klinischen und pathologischen Merkmale beider Gruppen glichen jenen von Mammakarzinomen in afrikanischen Ländern. Immunhistochemisch waren weniger als die Hälfte der Fälle HR-negativ. Zum Zeitpunkt der Untersuchung zu Beginn des Jahres 2014 bildete dieses Ergebnis einen Kontrast zu bis dahin publizierten Studien aus Westafrika, welche den Anteil HR-negativer Tumore in Afrika weitaus höher beschrieben. Auch der tripel-negative Typ wurde unter Beachtung der geringen Fallzahl (n=28) seltener festgestellt, als die bis dahin bekannten Veröffentlichungen beschrieben. Weiterhin waren 32% der Fälle positiv für HER2.

Die fernmetastasenfreie Überlebenswahrscheinlichkeit nach zwei Jahren betrug 77%. Beim Vergleich des fernmetastasenfreien Überlebens zwischen HR-positiven und –negativen Patientinnen konnte trotz der Option der Tamoxifeneinnahme bei positivem Rezeptorstatus kein Unterschied festgestellt werden. Ein Grund hierfür könnte unter anderem die vermutete unzuverlässige Medikamenteneinnahme und eine unzureichende Testqualität bei der Rezeptorbestimmung in Äthiopien gewesen sein. Unter den immunhistochemischen Typen hatte der tripel-negative Typ die schlechteste fernmetastasenfreie Überlebensrate.

Inzwischen wurden mehr wissenschaftliche Studien zum HR-status in afrikanischen Ländern publiziert. Neuere Studien bestätigten den geringeren Anteil HR-negativer Tumoren in Ostafrika. Es konnte geschlussfolgert werden, dass - bei unbekanntem Rezeptorstatus bzw. fehlender Möglichkeit einer individuellen immunhistochemischen Analyse - die Mehrzahl der Brustkrebspatientinnen in Äthiopien von einer Therapie mit Tamoxifen profitieren würde.

7 Literaturverzeichnis

- Adebamowo CA, Famooto A, Ogundiran TO, Aniagwu T, Nkwodimmah C, Akang EE (2008) Immunohistochemical and molecular subtypes of breast cancer in Nigeria. *Breast cancer research and treatment* 110:183–188. doi:10.1007/s10549-007-9694-5
- Adjei EK, Owusu-Afriyie O, Awuah B, Stalsberg H (2014) Hormone receptors and Her2 expression in breast cancer in sub-Saharan Africa. A comparative study of biopsies from Ghana and Norway. *The breast journal* 20:308–311. doi:10.1111/tbj.12261
- AGO e.V. (2012) Diagnostik und Therapie primärer und metastasierter Mammakarzinome; Prognostische und prädiktive Faktoren. http://www.ago-online.de/fileadmin/downloads/leitlinien/mamma/maerz2015/de/2015D_05_Prognostische_und_praediktive_Faktoren_NEU_150216.pdf. Zugegriffen: 04. November 2015
- Amadori D, Serra P, Bravaccini S, Farolfi A, Puccetti M, Carretta E, Medri L, Nanni O, Tumedei MM, Kahima J, Masalu N (2014) Differences in biological features of breast cancer between Caucasian (Italian) and African (Tanzanian) populations. *Breast cancer research and treatment* 145:177–183. doi:10.1007/s10549-014-2903-0
- Anders CK, Hsu DS, Broadwater G, Acharya CR, Foekens JA, Zhang Y, Wang Y, Marcom PK, Marks JR, Febbo PG, Nevins JR, Potti A, Blackwell KL (2008) Young age at diagnosis correlates with worse prognosis and defines a subset of breast cancers with shared patterns of gene expression. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 26:3324–3330. doi:10.1200/JCO.2007.14.2471
- Anderson BO (2014) Breast cancer in Sub-Saharan Africa: where can we go from here? *Journal of surgical oncology* 110:901–902. doi:10.1002/jso.23825
- Anderson BO, Shyyan R, Eniu A, Smith RA, Yip C-H, Bese NS, Chow, Louis W C, Masood S, Ramsey SD, Carlson RW (2006) Breast cancer in limited-resource countries: an overview of the Breast Health Global Initiative 2005 guidelines. *The breast journal* 12 Suppl 1:S3-15. doi:10.1111/j.1075-122X.2006.00199.x
- Bhikoo R, Srinivasa S, Yu T-C, Moss D, Hill AG (2011) Systematic review of breast cancer biology in developing countries (part 1): Africa, the middle East, eastern europe, Mexico, the Caribbean and South america. *Cancers* 3:2358–2381. doi:10.3390/cancers3022358
- Bird PA, Hill AG, Houssami N (2008) Poor hormone receptor expression in East African breast cancer: evidence of a biologically different disease? *Annals of surgical oncology* 15:1983–1988. doi:10.1245/s10434-008-9900-7
- Birhane N, Mamo A, Girma E, Asfaw S (2015) Predictors of breast self - examination among female teachers in Ethiopia using health belief model. *Archives of public health = Archives belges de santé publique* 73:39. doi:10.1186/s13690-015-0087-7
- Cheang MCU, Voduc D, Bajdik C, Leung S, McKinney S, Chia SK, Perou CM, Nielsen TO (2008) Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 14:1368–1376. doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-1658
- Christgen M, Steinemann D, Kuhnle E, Langer F, Gluz O, Harbeck N, Kreipe H (2016) Lobular breast cancer: Clinical, molecular and morphological characteristics. *Pathology, research and practice* 212:583–597. doi:10.1016/j.prp.2016.05.002
- Clemons M, Goss P (2001) Estrogen and the risk of breast cancer. *The New England journal of medicine* 344:276–285. doi:10.1056/NEJM200101253440407

- Demment MM, Peters K, Dykens JA, Dozier A, Nawaz H, McIntosh S, Smith JS, Sy A, Irwin T, Fogg TT, Khaliq M, Blumenfeld R, Massoudi M, De Ver Dye, Timothy (2015) Developing the Evidence Base to Inform Best Practice: A Scoping Study of Breast and Cervical Cancer Reviews in Low- and Middle-Income Countries. *PloS one* 10:e0134618. doi:10.1371/journal.pone.0134618
- Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, Hanna WM, Kahn HK, Sawka CA, Lickley LA, Rawlinson E, Sun P, Narod SA (2007) Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 13:4429–4434. doi:10.1158/1078-0432.CCR-06-3045
- Domanski AM, Monsef N, Domanski HA, Grabau D, Ferno M (2013) Comparison of the oestrogen and progesterone receptor status in primary breast carcinomas as evaluated by immunohistochemistry and immunocytochemistry: a consecutive series of 267 patients. *Cytopathology : official journal of the British Society for Clinical Cytology* 24:21–25. doi:10.1111/j.1365-2303.2012.00997.x
- Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (1998) Tamoxifen for early breast cancer; An overview of the randomised trials. *The Lancet* 351:1451–1467. doi:10.1016/S0140-6736(97)11423-4
- Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (2005) Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet (London, England)* 365:1687–1717. doi:10.1016/S0140-6736(05)66544-0
- Elling D, Pink V (1992) Tumormarker und Immunszintigraphie in der gynäkologischen Onkologie; Grundlagen - Bestimmungsmethoden - Indikationen. Springer Berlin Heidelberg
- Elston CW, Ellis IO (1991) 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* 19:403–410
- Eng A, McCormack V, dos-Santos-Silva I (2014) Receptor-defined subtypes of breast cancer in indigenous populations in Africa: a systematic review and meta-analysis. *PLoS medicine* 11:e1001720. doi:10.1371/journal.pmed.1001720
- Engel J, Schrodi S, Schubert-Fritschle G, Bauerfeind I (2010) Epidemiologie. In: Kreienberg R, Möbus V, Jonat W, Kühn T (Hrsg) *Mammakarzinom Interdisziplinär*. Springer, Berlin, New York, S 6
- Ferguson T, Wilcken N, Vagg R, Gherzi D, Nowak AK (2007) Taxanes for adjuvant treatment of early breast cancer. *The Cochrane database of systematic reviews*:CD004421. doi:10.1002/14651858.CD004421.pub2
- Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F (2015) Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International journal of cancer. Journal international du cancer* 136:E359-86. doi:10.1002/ijc.29210
- Fischer U (2014) *Diagnostik und Therapie des Mammakarzinoms*. Thieme, Stuttgart
- Fisher B, Redmond C (1992) Systemic therapy in node-negative patients: updated findings from NSABP clinical trials. National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project. *Journal of the National Cancer Institute. Monographs*:105–116
- GLOBOCAN Cancer Fact Sheets: Breast cancer. <http://globocan.iarc.fr/old/FactSheets/cancers/breast-new.asp>. Zugegriffen: 25. Januar 2016

- Gnant M, Thomssen C, Harbeck N (2015) St. Gallen/Vienna 2015: A Brief Summary of the Consensus Discussion. *Breast care (Basel, Switzerland)* 10:124–130. doi:10.1159/000430488
- Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn H-J (2011) Strategies for subtypes--dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 22:1736–1747. doi:10.1093/annonc/mdr304
- Gonzalez-Angulo AM, Litton JK, Broglio KR, Meric-Bernstam F, Rakhit R, Cardoso F, Peintinger F, Hanrahan EO, Sahin A, Guray M, Larsimont D, Feoli F, Stranzl H, Buchholz TA, Valero V, Theriault R, Piccart-Gebhart M, Ravdin PM, Berry DA, Hortobagyi GN (2009) High risk of recurrence for patients with breast cancer who have human epidermal growth factor receptor 2-positive, node-negative tumors 1 cm or smaller. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 27:5700–5706. doi:10.1200/JCO.2009.23.2025
- Hanf V, Körner W (2010) Mammakarzinom und Umweltfaktoren. In: Kreienberg R, Möbus V, Jonat W, Kühn T (Hrsg) *Mammakarzinom Interdisziplinär*. Springer, Berlin, New York, S 12
- Harbeck N (Hrsg) (2012) *Das frühe Mammakarzinom*. UNI-MED-Verl., Bremen, London, Boston, Mass.
- Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, Allred DC (1999) Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 17:1474–1481
- Herbst H, Hübner JH *Immunhistologie - Pathologie Online*. http://www.pathologie-online.de/methoden/immunhistologie/#Die_indirekte_bzw_2-Schritt-indirekte_Methode. Zugegriffen: 21. Oktober 2015
- Holbro T, Civenni G, Hynes NE (2003) The ErbB receptors and their role in cancer progression. *Experimental cell research* 284:99–110
- Huo D, Ikpatt F, Khramtsov A, Dangou J-M, Nanda R, Dignam J, Zhang B, Grushko T, Zhang C, Oluwasola O, Malaka D, Malami S, Odetunde A, Adeoye AO, Iyare F, Falusi A, Perou CM, Olopade OI (2009) Population differences in breast cancer: survey in indigenous African women reveals over-representation of triple-negative breast cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 27:4515–4521. doi:10.1200/JCO.2008.19.6873
- Jemal A, Fedewa SA (2012) Is the prevalence of ER-negative breast cancer in the US higher among Africa-born than US-born black women? *Breast cancer research and treatment* 135:867–873. doi:10.1007/s10549-012-2214-2
- Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM (2010) Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* 19:1893–1907. doi:10.1158/1055-9965.EPI-10-0437
- Jagge E, Jibril AS, Chitale D, Bensenhaver JM, Awuah B, Hoenerhoff M, Adjei E, Bekele M, Abebe E, Nathanson SD, Gyan K, Salem B, Oppong J, Aitpillah F, Kyei I, Bonsu EO, Proctor E, Merajver SD, Wicha M, Stark A, Newman LA (2016) Comparative Analysis of Breast Cancer Phenotypes in African American, White American, and West Versus East African patients: Correlation Between African Ancestry and Triple-Negative Breast Cancer. *Annals of surgical oncology* 23:3843–3849. doi:10.1245/s10434-016-5420-z

- Kandel MJ, Stadler Z, Masciari S, Collins L, Schnitt S, Harris L, Miron A, Richardson A, Garber JE (2006) Prevalence of BRCA1 mutations in triple negative breast cancer (BC). *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 24:508. doi:10.1200/jco.2006.24.18_suppl.508
- Kantelhardt EJ, Zerche P, Mathewos A, Trocchi P, Addissie A, Aynalem A, Wondemagegnehu T, Ersumo T, Reeler A, Yonas B, Tinsae M, Gemechu T, Jemal A, Thomssen C, Stang A, Bogale S (2014a) Breast cancer survival in Ethiopia: a cohort study of 1,070 women. *International journal of cancer. Journal international du cancer* 135:702–709. doi:10.1002/ijc.28691
- Kantelhardt EJ, Muluken G, Sefonias G, Wondimu A, Gebert HC, Unverzagt S, Addissie A (2015) A Review on Breast Cancer Care in Africa. *Breast care (Basel, Switzerland)* 10:364–370. doi:10.1159/000443156
- Kantelhardt EJ, Thomssen C, Vetter M (2012) Therapierrelevante prognostische und prädiktive Faktoren - Indikationsstellung zur adjuvanten Systemtherapie; Östrogenrezeptor (ER) und Progesteronrezeptor (PR). In: Harbeck N (Hrsg) *Das frühe Mammakarzinom*. UNI-MED-Verl., Bremen, London, Boston, Mass., S 54–59
- Kantelhardt EJ, Mathewos A, Aynalem A, Wondemagegnehu T, Jemal A, Vetter M, Knauf E, Reeler A, Bogale S, Thomssen C, Stang A, Gemechu T, Trocchi P, Yonas B (2014b) The prevalence of estrogen receptor-negative breast cancer in Ethiopia. *BMC cancer* 14:895. doi:10.1186/1471-2407-14-895
- Khoury T, Sait S, Hwang H, Chandrasekhar R, Wilding G, Tan D, Kulkarni S (2009) Delay to formalin fixation effect on breast biomarkers. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 22:1457–1467. doi:10.1038/modpathol.2009.117
- Kreienberg R, Albert U-S, Follmann M, Kopp IB, Kühn T, Wöckel A (2013) Interdisciplinary GoR level III Guidelines for the Diagnosis, Therapy and Follow-up Care of Breast Cancer: Short version - AWMF Registry No.: 032-045OL AWMF-Register-Nummer: 032-045OL - Kurzversion 3.0, Juli 2012. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde* 73:556–583. doi:10.1055/s-0032-1328689
- Lambertini M, Santoro L, Del Mastro L, Nguyen B, Livraghi L, Ugolini D, Peccatori FA, Azim HA (2016) Reproductive behaviors and risk of developing breast cancer according to tumor subtype: A systematic review and meta-analysis of epidemiological studies. *Cancer treatment reviews* 49:65–76. doi:10.1016/j.ctrv.2016.07.006
- Lang G (2013) *Histotechnik*. Springer Vienna, Vienna
- Lebeau A, Mitze M (2010) Morphologische Grundlagen. In: Kreienberg R, Möbus V, Jonat W, Kühn T (Hrsg) *Mammakarzinom Interdisziplinär*. Springer, Berlin, New York, S 85–88
- Leica Biosystems Newcastle Ltd Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody Progesterone Receptor; Product Code: NCL-L-PGR.
http://www.leicabiosystems.com/fileadmin/img_uploads/novocastra_reagents/Novocast_ra_datasheets/pgr-l-ce.pdf. Zugegriffen: 01. September 2016
- Leica Biosystems Newcastle Ltd Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody Estrogen Receptor; Product Code: NCL-L-ER-6F11.
http://www.leicabiosystems.com/fileadmin/img_uploads/novocastra_reagents/Novocast_ra_datasheets/er-6f11-l-ce.pdf. Zugegriffen: 01. September 2016
- Li CI-F (2010) *Breast cancer epidemiology*. Springer, New York
- Ly M, Antoine M, Dembélé AK, Levy P, Rodenas A, Touré BA, Badiaga Y, Dembélé BK, Bagayogo DC, Diallo YL, Koné AA, Callard P, Bernaudin J-F, Diallo DA (2012) High incidence of triple-negative tumors in sub-saharan Africa: a prospective study of

- breast cancer characteristics and risk factors in Malian women seen in a Bamako university hospital. *Oncology* 83:257–263. doi:10.1159/000341541
- Mbonde MP, Amir H, Akslen LA, Kitinya JN (2001) Expression of oestrogen and progesterone receptors, Ki-67, p53 and BCL-2 proteins, cathepsin D, urokinase plasminogen activator and urokinase plasminogen activator-receptors in carcinomas of the female breast in an African population. *East African medical journal* 78:360–365
- Meng X, Li Y, Tang H, Mao W, Yang H, Wang X, Ding X, Xie S (2015) Drug response to HER2 gatekeeper T798M mutation in HER2-positive breast cancer. *Amino acids* 48:487–497. doi:10.1007/s00726-015-2102-2
- MVZ für Histologie, Zytologie und Molekulare Diagnostik Steroidrezeptorstatus und Immunreaktiver Score. <http://www.patho-trier.de/klassifikationen/mammakarzinom/irs.html>. Zugegriffen: 29. Januar 2017
- Nalwoga H, Arnes JB, Wabinga H, Akslen LA (2007) Frequency of the basal-like phenotype in African breast cancer. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica* 115:1391–1399. doi:10.1111/j.1600-0463.2007.00862.x
- Nalwoga H, Arnes JB, Wabinga H, Akslen LA (2008) Expression of EGFR and c-kit is associated with the basal-like phenotype in breast carcinomas of African women. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica* 116:515–525
- Nicholson RI, McClelland RA, Finlay P, Eaton CL, Gullick WJ, Dixon AR, Robertson JF, Ellis IO, Blamey RW (1993) Relationship between EGF-R, c-erbB-2 protein expression and Ki67 immunostaining in breast cancer and hormone sensitivity. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)* 29A:1018–1023
- Nicholson RI, McClelland RA, Gee JM, Manning DL, Cannon P, Robertson JF, Ellis IO, Blamey RW (1994) Epidermal growth factor receptor expression in breast cancer: association with response to endocrine therapy. *Breast cancer research and treatment* 29:117–125
- Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, Hernandez-Boussard T, Livasy C, Cowan D, Dressler L, Akslen LA, Ragaz J, Gown AM, Gilks CB, van de Rijn M, Perou CM (2004) Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 10:5367–5374. doi:10.1158/1078-0432.CCR-04-0220
- Ohene-Yeboah M, Adjei E (2012) Breast cancer in Kumasi, Ghana. *Ghana medical journal* 46:8–13
- Pang J, Toy KA, Griffith KA, Awuah B, Quayson S, Newman LA, Kleer CG (2012) Invasive breast carcinomas in Ghana: high frequency of high grade, basal-like histology and high EZH2 expression. *Breast cancer research and treatment* 135:59–66. doi:10.1007/s10549-012-2055-z
- Parker JS, Mullins M, Cheang M, Maggic C U, Leung S, Voduc D, Vickery T, Davies S, Fauron C, He X, Hu Z, Quackenbush JF, Stijleman IJ, Palazzo J, Marron JS, Nobel AB, Mardis E, Nielsen TO, Ellis MJ, Perou CM, Bernard PS (2009) Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 27:1160–1167. doi:10.1200/JCO.2008.18.1370
- Pegram MD, Pauletti G, Slamon DJ (1998) HER-2/neu as a predictive marker of response to breast cancer therapy. *Breast cancer research and treatment* 52:65–77
- Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluge O, Pergamenschikov A, Williams C, Zhu SX, Lønning

- PE, Børresen-Dale AL, Brown PO, Botstein D (2000) Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 406:747–752. doi:10.1038/35021093
- Peto R, Davies C, Godwin J, Gray R, Pan HC, Clarke M, Cutter D, Darby S, McGale P, Taylor C, Wang YC, Bergh J, Di Leo A, Albain K, Swain S, Piccart M, Pritchard K (2012) Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: meta-analyses of long-term outcome among 100,000 women in 123 randomised trials. *Lancet* (London, England) 379:432–444. doi:10.1016/S0140-6736(11)61625-5
- Proctor E, Kidwell KM, Jiagge E, Bensenhaver J, Awuah B, Gyan K, Toy K, Oppong JK, Kyei I, Aitpillah F, Osei-Bonsu E, Adjei E, Ohene-Yeboah M, Brewer RN, Fondjo LA, Owusu-Afriyie O, Wicha M, Merajver S, Kleer C, Newman L (2015) Characterizing Breast Cancer in a Population with Increased Prevalence of Triple-Negative Breast Cancer: Androgen Receptor and ALDH1 Expression in Ghanaian Women. *Annals of surgical oncology* 22:3831–3835. doi:10.1245/s10434-015-4455-x
- Putti TC, El-Rehim DMA, Rakha EA, Paish CE, Lee AHS, Pinder SE, Ellis IO (2005) Estrogen receptor-negative breast carcinomas: a review of morphology and immunophenotypical analysis. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 18:26–35. doi:10.1038/modpathol.3800255
- Rakha EA, Elsheikh SE, Aleskandarany MA, Habashi HO, Green AR, Powe DG, El-Sayed ME, Benhasouna A, Brunet J-S, Akslen LA, Evans AJ, Blamey R, Reis-Filho JS, Foulkes WD, Ellis IO (2009) Triple-negative breast cancer: distinguishing between basal and nonbasal subtypes. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 15:2302–2310. doi:10.1158/1078-0432.CCR-08-2132
- Rambau PF, Chalya PL, Manyama MM, Jackson KJ (2011) Pathological features of Breast Cancer seen in Northwestern Tanzania: a nine years retrospective study. *BMC research notes* 4:214. doi:10.1186/1756-0500-4-214
- Remmele W, Stegner HE (1987) Vorschlag zur einheitlichen Definition eines Immunreaktiven Score (IRS) für den immunhistochemischen Östrogenrezeptor-Nachweis (ER-ICA) im Mammakarzinomgewebe. *Der Pathologe* 8:138–140
- Rizwan MM, Saadullah M (2009) Lack of awareness about breast cancer and its screening in developing countries. *Indian journal of cancer* 46:252–253. doi:10.4103/0019-509X.52969
- Rote Liste Service GmbH Tamoxifen Abz 20 mg Tabletten Fachinformation. <https://www.fachinfo.de/suche/fi/008652>. Zugegriffen: 05. August 2017
- Roy I, Othieno E (2011) Breast carcinoma in Uganda: microscopic study and receptor profile of 45 cases. *Archives of pathology & laboratory medicine* 135:194–199. doi:10.1043/2008-0421-SOR1.1
- Salhia B, Tapia C, Ishak EA, Gaber S, Berghuis B, Hussain KH, Duquette RA, Resau J, Carpten J (2011) Molecular subtype analysis determines the association of advanced breast cancer in Egypt with favorable biology. *BMC women's health* 11:44. doi:10.1186/1472-6874-11-44
- Sayed S, Mooloo Z, Wasike R, Bird P, Oigara R, Govender D, Kibera J, Carrara H, Saleh M (2014) Is breast cancer from Sub Saharan Africa truly receptor poor? Prevalence of ER/PR/HER2 in breast cancer from Kenya. *Breast (Edinburgh, Scotland)* 23:591–596. doi:10.1016/j.breast.2014.06.006
- Schmitt M, Thomssen C, Ulm K, Seiderer A, Harbeck N, Höfler H, Jänicke F, Graeff H (1997) Time-varying prognostic impact of tumour biological factors urokinase (uPA),

- PAI-1 and steroid hormone receptor status in primary breast cancer. *British journal of cancer* 76:306–311
- Seife T, Teklehaimanot D, Mezgebe N, Meaza D (2012) Knowledge about breast cancer risk factors, breast screening method and practice of breast screening among female healthcare professionals working in governmental hospitals. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSRJPBS)*:5–12
- Shannon C, Smith IE (2003) Breast cancer in adolescents and young women. *European Journal of Cancer* 39:2632–2642. doi:10.1016/S0959-8049(03)00669-5
- Skoog L, Humla S, Isaksson S, Tani E (1990) Immunocytochemical analysis of receptors for estrogen and progesterone in fine-needle aspirates from human breast carcinomas. *Diagn. Cytopathol.* 6:95–98. doi:10.1002/dc.2840060205
- Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, Levin WJ, Stuart SG, Udove J, Ullrich A (1989) Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science (New York, N.Y.)* 244:707–712
- Sørli T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, Hastie T, Eisen MB, van de Rijn, M, Jeffrey SS, Thorsen T, Quist H, Matese JC, Brown PO, Botstein D, Lønning PE, Børresen-Dale AL (2001) Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98:10869–10874. doi:10.1073/pnas.191367098
- Sørli T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, Deng S, Johnsen H, Pesich R, Geisler S, Demeter J, Perou CM, Lønning PE, Brown PO, Børresen-Dale A-L, Botstein D (2003) Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100:8418–8423. doi:10.1073/pnas.0932692100
- Stark A, Kleer CG, Martin I, Awuah B, Nsiah-Asare A, Takyi V, Braman M, Quayson SE, Zarbo R, Wicha M, Newman L (2010) African ancestry and higher prevalence of triple-negative breast cancer: findings from an international study. *Cancer* 116:4926–4932. doi:10.1002/cncr.25276
- Tafjord S, Bohler PJ, Risberg B, Torlakovic E (2002) Estrogen and progesterone hormone receptor status in breast carcinoma: comparison of immunocytochemistry and immunohistochemistry. *Diagnostic cytopathology* 26:137–141
- Thompson AM, Jordan LB, Quinlan P, Anderson E, Skene A, Dewar JA, Purdie CA (2010) Prospective comparison of switches in biomarker status between primary and recurrent breast cancer: the Breast Recurrence In Tissues Study (BRITS). *Breast cancer research : BCR* 12:R92. doi:10.1186/bcr2771
- Thomssen C (2005) Mammakarzinom - Standards der Versorgung heute und morgen. *Onkologie* 11:265–272. doi:10.1007/s00761-005-0835-3
- Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A (2015) Global cancer statistics, 2012. *CA: a cancer journal for clinicians* 65:87–108. doi:10.3322/caac.21262
- Ugiagbe EE, Obaseki DE, Oluwasola AO, Olu-Eddo AN, Akhiwu WO (2012) Frequency of distribution of oestrogen and progesterone receptors positivities in breast cancer cases in Benin-City, Nigeria. *The Nigerian postgraduate medical journal* 19:19–24
- United Nations Development Programme Data | Human Development Reports. <http://hdr.undp.org/en/data>. Zugegriffen: 02. November 2015
- Walker RA, Dearing SJ (1999) Expression of epidermal growth factor receptor mRNA and protein in primary breast carcinomas. *Breast cancer research and treatment* 53:167–176

Woldeamanuel YW, Girma B, Teklu AM (2013) Cancer in Ethiopia. *The Lancet Oncology* 14:289–290. doi:10.1016/S1470-2045(12)70399-6

Wolff AC, Hammond MEH, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, Allred DC, Bartlett JMS, Bilous M, Fitzgibbons P, Hanna W, Jenkins RB, Mangu PB, Paik S, Perez EA, Press MF, Spears PA, Vance GH, Viale G, Hayes DF (2013) Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 31:3997–4013. doi:10.1200/JCO.2013.50.9984

Yarney J, Vanderpuye V, Clegg Lamptey, Joe Nat (2008) Hormone receptor and HER-2 expression in breast cancers among Sub-Saharan African women. *The breast journal* 14:510–511. doi:10.1111/j.1524-4741.2008.00636.x

Youlten DR, Cramb SM, Dunn, Nathan A M, Muller JM, Pyke CM, Baade PD (2012) The descriptive epidemiology of female breast cancer: an international comparison of screening, incidence, survival and mortality. *Cancer epidemiology* 36:237–248. doi:10.1016/j.canep.2012.02.007

8 Thesen

1. Weniger als die Hälfte der untersuchten Fälle waren immunhistochemisch negativ für Östrogen- und/ oder Progesteronrezeptor. Mehr als die Hälfte der Fälle wären damit für eine endokrine Therapie mit Tamoxifen geeignet. Tamoxifen sollte bei der Behandlung von Mammakarzinompatientinnen mit unbekanntem Rezeptorstatus in Äthiopien empfohlen werden.
2. Die immunhistochemischen Ergebnisse bildeten einen Kontrast zu bis zum Zeitpunkt der Datenerhebung publizierten Studien aus westafrikanischen Ländern, die überwiegend hormonrezeptor-negative Tumore beschrieben. Eine mittlerweile publizierte Metaanalyse bestätigte den höheren Anteil hormonrezeptor-positiver Tumoren in Ostafrika im Gegensatz zu Westafrika (Eng et al. 2014).
3. Ein Trend für ein erhöhtes Risiko für Hormonrezeptornegativität konnte bei jüngerem Alter der Patientinnen, fortgeschrittenem Tumorstadium sowie invasiv-duktalem oder invasiv-lobulärer Histologie im Vergleich zu anderen histologischen Typen festgestellt werden.
4. Ca. 32% der untersuchten Fälle waren positiv für den Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2).
5. Ca. 32% der untersuchten Fälle konnten immunhistochemisch dem tripel-negativen Typ zugeordnet werden.
6. Die fernmetastasenfreie Überlebenswahrscheinlichkeit nach 2 Jahren betrug 77%.
7. Ein Unterschied zwischen dem fernmetastasenfreien Überleben HR-positiver und –negativer Patientinnen konnte trotz Option zur Tamoxifentherapie nicht gezeigt werden.
8. Patientinnen aus Addis Abeba, mit fortgeschrittenen Tumorstadien und mit invasiv-lobulären Karzinomen zeigten Hinweise für eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für die Entwicklung von Fernmetastasen.
9. Es wurden hauptsächlich duktales, high-grade Mammakarzinome in fortgeschrittenen Tumorstadien von jungen, äthiopischen Frauen dokumentiert.
10. Diese klinischen und pathologischen Merkmale über Mammakarzinome in Äthiopien glichen den Angaben bisheriger Studien aus Ostafrika.

Selbstständigkeitserklärung

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Alle Regeln der guten wissenschaftlichen Praxis wurden eingehalten; es wurden keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht.

Halle (Saale), den 16.11.2017

Erdme Knauf

Erklärung über frühere Promotionsversuche

Hiermit erkläre ich, Erdme Knauf, dass die vorliegende Arbeit „Das immunhistochemische Profil von Mammakarzinomen in Äthiopien im Vergleich zu anderen Regionen weltweit“ zur Erlangung des akademischen Doktorgrades Doktor der Medizin (Dr. med.) erstmalig von mir eingereicht wird.

Ich erkläre, dass ich mich an keiner anderen Hochschule einem Promotionsverfahren unterzogen bzw. eine Promotion begonnen habe.

Halle (Saale), den 16.11.2017

Erdme Knauf

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Erdme Knauf
Adresse: August-Bebel-Straße 33
06108 Halle
Geburtsdatum / -ort: 9. Januar 1991, Freiberg
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: geschieden, 1 Sohn

Tabellarischer Lebenslauf

Schulbildung

1997 – 2001 Grundsule „Gottfried Silbermann“, Freiberg
2001 – 2009 Gymnasium „Geschwister Scholl“, Freiberg
Schulabschluss: Allgemeine Hochschulreife 2009

Hochschulstudium

Seit 2010 Studium der Humanmedizin an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Herbst 2012 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Frühjahr 2016 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
November 2017 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Praktische Tätigkeiten

2013-2016 Tätigkeit als studentische Hilfskraft (Tutor) im Dorothea-Erxleben-Lernzentrum (Skillslab)
Nov. 2016 – März 2017 Praktisches Jahr: 1. Tertial: Department für Orthopädie und Unfallchirurgie, UKH
März – Juli 2017 Praktisches Jahr 2. Tertial: Klinik für Innere Medizin I: Gastroenterologie und Pulmologie, UKH
Juli – Okt. 2017 Praktisches Jahr 3. Tertial: Praxis für Allgemeinmedizin, Dr. A. Ehrhardt, Halle (Saale)

Auslandsaufenthalte

2009 – 2010 Tätigkeit als freiwilliger Helfer beim „Taller de Acción Comunitaria“ in Valparaíso, Chile (Sozialpädagogische Arbeit mit Schulklassen)
Jan.- Apr. 2014 Datensammlung im Rahmen der Doktorarbeit in Addis Abeba, Äthiopien
Aug. 2014 Famulatur in der Klinik für Innere Medizin, Hospital Seguro Social, Durango, Mexiko

Halle (Saale), den 16.11.2017

Erdme Knauf

Publikationen

Teile der vorliegenden Arbeit wurden publiziert.

Publikation in Fachjournalen

„The prevalence of estrogen receptor-negative breast cancer in Ethiopia“

Kantelhardt EJ, Mathewos A, Aynalem A, Wondemagegnehu T, Jemal A, Vetter M, Knauf E, Reeler A, Bogale S, Thomssen C, Stang A, Gemechu T, Trocchi P, Yonas B
BMC cancer 14:895 (2014)

Vorträge und Posterpräsentationen

“Das immunhistochemische Profil von Mammakarzinomen in Äthiopien im Vergleich zu anderen Regionen weltweit“

(Vortrag im Rahmen des 2. Doktorandenkongresses der Medizinischen Fakultät der MLU Halle, 13.12.2013)

„Das Mammakarzinom in Äthiopien: Ergebnisse von 45 Mammakarzinom-Tumoren 2006-2010 aus dem Addis-Abeba-Universitätskrankenhaus“

(Posterpräsentation im Rahmen der 8. Jahrestagung der Mitteldeutschen Gesellschaft für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Dresden 27.6.2014)

“Das immunhistochemische Profil von Mammakarzinomen in Äthiopien im Vergleich zu anderen Regionen weltweit“

(Posterpräsentation im Rahmen des 3. Doktorandenkongresses der Medizinischen Fakultät der MLU Halle, 21.11.2015)

„The hormonereceptor status of breast cancer in Ethiopia – a retrospective analysis of 343 cases from the University Hospital in Addis Abeba“

(Vortrag im Rahmen der Ethiopian Summer School, Halle, 23.9.2016)

Danksagung

Ein besonderer Dank gilt Frau Dr. Eva Kantelhardt: Vielen Dank für Deine Unterstützung und Betreuung hinsichtlich aller meiner Fragen zur Promotion, ebenso wie zum Land Äthiopien.

Desweiteren gilt ein besonderer Dank Herrn Dr. Yonas Bekuretsion für seine Hilfe bei der Befundung der histologischen Schnitte und für den warmen Empfang und stetige Hilfe in Äthiopien. Auch Herrn Mathewos und Frau Aynalem des Krebsregisters in Addis Abeba möchte ich für die angenehme Zusammenarbeit im gemeinsamen Büro danken.

Weiterhin möchte ich Prof. Thomssen, Frau PD Dr. Susanne Unverzagt, den Mitarbeiterinnen des Forschungslabors der Gynäkologie Dr. Martina Vetter und Kathrin Stückrath, sowie Jana Beer des Instituts für Pathologie, Universitätsklinikum Halle und Frau Martin des MVZ für Histologie, Zytologie und Molekulare Diagnostik in Trier für sämtliche kritische Anmerkungen und Verbesserungsvorschläge danken.

Ebenso möchte ich Professor Hauptmann für seine Unterstützung während meines Aufenthalts in Düren und Trier danken.

Nicht zuletzt gilt ein außerordentlicher Dank meiner Familie und meinen Freunden: vor allem Cesar Lopez, dafür, dass Du mir so oft versucht hast, den Rücken frei zu halten; meinen Eltern, Großeltern und meiner Schwester für Euer beharrliches Nachfragen und Korrekturlesen, sowie allen anderen, welche in irgendeiner Weise dazu beigetragen haben, dass diese Promotion vollendet werden konnte.