

Aus dem Institut für Pathologie  
der Medizinischen Fakultät  
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

eIF2B5 als möglicher  
Tumormarker des Mammakarzinoms

**Dissertation**

zur Erlangung des Doktorgrades  
Dr. med.  
(doctor medicinae)

an der Medizinischen Fakultät  
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

vorgelegt von	Moritz Kirchhoff
aus	Wadgassen
Wadgassen,	2025

# Dokumentationsblatt

## Kirchhoff, Moritz:

eIF2B5 als möglicher Tumormarker des Mammakarzinoms

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades Dr. med. (doctor medicinae) an der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

2025 – 72 Seiten, 32 Abbildungen, 20 Tabellen

## Kurzreferat:

Das Mammakarzinom steht aufgrund seiner hohen Prävalenz und Inzidenz in besonderem klinischem und wissenschaftlichem Fokus. EIF2B und seine Untereinheiten spielen eine zentrale Rolle in der Proteinbiosynthese von Zellen.

In dieser Arbeit wurde die Expression von eIF2B5 auf immunhistochemischer Ebene, sowie die Expression von eIF2B1, eIF2B2, eIF2B4 und eIF2B5 auf mRNA-Ebene in Hinblick auf deren Bedeutung als Tumormarker und auch als Prognoseparameter für das Mammakarzinom untersucht.

Die immunhistochemische Analysen zweier Kohorten (276 Patientinnen und 49 Patientinnen) zeigten keine gesteigerte eIF2B5-Expression in Mammakarzinomen. Dennoch ließ sich eine verminderte immunhistochemische Expression von eIF2B5 bei nodal-positiven Mammakarzinomen in einer der Kohorten nachweisen.

Weiterhin war die mRNA-Expression von eIF2B5 bei Mammakarzinomen bei Betrachtung verschiedener Subcharakteristika signifikant erhöht.

Zudem konnte gezeigt werden, dass eine niedrige eIF2B5-Expression auf mRNA-Niveau mit einer günstigeren Prognose einhergeht, wenn die Patientinnen eine Hormontherapie bekamen, so dass die eIF2B5-Expression zumindest auf mRNA-Niveau als prädiktiver Faktor für diese Patientinnen mit Mammakarzinom dienen könnte.

**Schlüsselwörter:** eIF2B5 – eIF2 – Mammakarzinom – Tumormarker

- Prognoseparameter

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>IV</b>
<b>Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>VI</b>
<b>Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>VIII</b>
<b>1. Einleitung.....</b>	<b>1</b>
1.1. Mammakarzinom .....	1
1.1.1. Epidemiologie .....	1
1.1.2. Vorsorge.....	1
1.1.3. Ätiologie.....	2
1.1.4. Klassifikation .....	2
1.1.5. Pathologie und (Immun-) Histologie .....	3
1.1.6. Therapie.....	6
1.1.7. Prognostische und prädiktive Faktoren.....	12
1.2. eIF2 und eIF2B .....	13
1.2.1. eIF2 .....	13
1.2.2. eIF2B und eIF2B5 .....	14
1.2.3. Klinische Relevanz.....	15
1.3. Zielsetzung .....	18
<b>2. Material und Methoden.....</b>	<b>19</b>
2.1. Material .....	19
2.1.1. Patientenkollektive und Genexpressions-Datensätze.....	19
2.2. Methoden.....	22
2.2.1. Immunhistochemie .....	22
2.2.2. Aufarbeitung klinisch-pathologischer Parameter der Mamma-Karzinome .....	24
2.2.3. Statistische Methoden .....	25
<b>3. Ergebnisse.....</b>	<b>27</b>
3.1. Ergebnisse der immunhistochemischen Untersuchungen .....	27
3.1.1. Klinisch-pathologische Daten .....	27
3.1.2. Immunhistochemische Expressionsanalyse .....	33
3.1.3. Korrelation der immunhistochemischen eIF2B5-Expression mit den klinisch-pathologischen Faktoren .....	33
3.2. Ergebnisse der bioinformatischen Analyse von Genexpressions-Datensätzen.....	35
3.2.1. Klinisch-pathologische Daten .....	35
3.2.2. mRNA-Expressionsanalyse.....	38

3.2.3.	Korrelation der bioinformatischen eIF2B-Expression mit den klinisch-pathologischen Faktoren	38
3.3.	Überlebenszeitanalyse.....	40
3.3.1.	Korrelation der immunhistochemischen eIF2B5-Expression mit dem Überleben .....	40
3.3.2.	Korrelation der eIF2B-Genexpressionsdaten mit dem Überleben.....	42
<b>4.</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>62</b>
4.1.	Patientenkollektive und klinisch pathologische Parameter.....	62
4.2.	Expression der eIF2B-Untereinheiten und klinisch pathologische Faktoren.....	63
4.3.	Expression der eIF2B-Untereinheiten und Überleben .....	64
4.4.	eIF2B-Expression und therapeutische Ansätze:.....	69
4.5.	Kritische Betrachtung der Relevanz der eIF2B-Expression als Tumorfaktor beim Mammakarzinom.....	71
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>72</b>
	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>73</b>
	<b>Danksagung .....</b>	<b>84</b>
	<b>Ehrenerklärung .....</b>	<b>85</b>
	<b>Erklärung zur strafrechtlichen Verurteilung.....</b>	<b>86</b>
	<b>Lebenslauf.....</b>	<b>87</b>
<b>6.</b>	<b>Anlagen:.....</b>	<b>89</b>
6.1.	Tabellen und Abbildungen zu Kapitel 1 Einleitung:.....	89
6.2.	Abbildungen zu Kapitel 2 Material und Methoden: .....	93
6.3.	Tabellen und Abbildungen zu Kapitel 3 Ergebnisse: .....	94

## Abkürzungsverzeichnis

<b>ALH</b>	Atypische lobuläre Hyperplasie
<b>AUG</b>	Startcodon, welches in Eukaryonten für die Aminosäure Methionin codiert
<b>BET</b>	Brusterhaltende Therapie
<b><i>BRCA-1</i>-Gen</b>	Breast cancer 1, early-onset. Tumorsuppressorgen auf Chromosom 17. Kodiert für Proteine, die bei DNA-Reparatur wichtig sind.
<b><i>BRCA-2</i>-Gen</b>	Breast cancer 2, early-onset. Tumorsuppressorgen auf Chromosom 13, das für ein im Zellkern vorkommendes Polypeptid codiert. Wichtig für DNA-Reparatur
<b>CATCH</b>	Childhood ataxia with central nervous system hypomyelination
<b>CDK4/6-Inhibitoren</b>	Inhibitoren, die die Cyclin-abhängigen Kinasen und somit die Zellzyklusprogression hemmen
<b>CK 5/6, 14, 17, 19</b>	Zytokeratine = faserbildende Strukturproteine, welche der Zelle Stabilität und Form verleihen
<b>DAB</b>	Diaminobenzidinlösung
<b>DCIS</b>	Duktales Carcinoma in situ
<b>DM-1</b>	Mitosehemmstoff Mertansin
<b>DNA</b>	Deoxyribonucleic acid = Desoxyribonukleinsäure
<b>EGA</b>	European Genome-phenome Archive
<b>eIF2B5</b>	Eukaryotic Translation Initiation Factor 2B Subunit Epsilon
<b>ER</b>	Östrogenrezeptor
<b>GCN 2</b>	General control non-repressed 2 kinase
<b>GDP</b>	Guanosindiphosphat
<b>GEO</b>	Gene Expression Omnibus
<b>GnRH</b>	Gonadotropin-Releasing-Hormon
<b>GTP</b>	Guanosintriphosphat
<b>HCC</b>	Hepatozelluläres Karzinom
<b>HER2</b>	Human epidermal growth factor receptor 2
<b>HRI</b>	Haem-regulated inhibitor of translation
<b>Ig</b>	Immunglobulin, Antikörper
<b>IRS</b>	Immunreaktiver Score
<b>ISRIB</b>	Integrated stress response inhibitor
<b>JÜR</b>	Jahres-Überlebensrate
<b>LCIS</b>	Lobuläres Carcinoma in situ
<b>LK</b>	Lymphknoten
<b>Metabric</b>	Molecular Taxonomy of Breast Cancer International Consortium

<b>miRNA</b>	micro-RNA, micro-Ribonukleinsäure
<b>mRNA</b>	messenger-RNA, messenger-Ribonukleinsäure
<b>mTOR</b>	Mammalian target of rapamycin (Protein, dass bei Säugetieren Rapamycin bindet)
<b>NST</b>	„nicht-spezifischer Typ“, früher invasiv duktales Karzinom
<b>p53-Gen</b>	P53-Protein. Tumorsuppressorgen auf Chromosom 17
<b>PALB2-Gen</b>	Partner and localizer of BRCA2. Tumorsuppressorgen auf Chromosom 16. Hilft bei der Bindung von <i>BRCA-2</i> an die DNA
<b>P-Cadherin</b>	Transmembranprotein, welches eine Rolle bei der Zelladhäsion (Anheften von Zellen an ihre Nachbarzellen) spielt
<b>PD-L1</b>	Programmed cell-death-Ligand 1
<b>PEK</b>	Pancreatic eIF2 kinase
<b>PERK</b>	PKR-like endoplasmic reticulum kinase
<b>PI3K/AKT-Pathway</b>	Phosphoinositid-3-Kinase/AKT-Signalweg = intrazellulärer Signalweg, der Wachstum, Proliferation und Stoffwechsel von Zellen reguliert
<b>PKR</b>	Proteinkinase R
<b>PR</b>	Progesteronrezeptor
<b>PTEN-Gen</b>	Phosphatase and tensin homolog. Gen, das für eine Phosphatase codiert, welche als Tumorsuppressor agiert
<b>qRT-PCR</b>	Real-Time Polymerase-Chain-Reaction / Real-Time PCR
<b>RCB</b>	Residual Cancer Burden
<b>RNA</b>	Ribonukleinsäure
<b>SD</b>	Standard Deviation = Standardabweichung
<b>SLNE</b>	Sentinel-Lymphonodeektomie = Entfernung des Wächter-Lymphknotens
<b>TCGA</b>	The Cancer Genome Atlas Program
<b>TNBC</b>	Triple negative Breast Cancer
<b>tRNA</b>	transfer-RNA
<b>VWM</b>	Vanishing white matter (disease)

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1: Kriterien des Gradings für das Mammakarzinom nach Elston und Ellis.....	4
Tabelle 1.2: Klassifikation des Mamma-Karzinoms in die intrinsischen Subtypen an Hand immunhistologischer Marker [38–40].....	5
Tabelle 3.1: Klinisch-pathologische Parameter und immunhistochemische Färbeintensität mit dem eIF2B5 Antikörper der Kohorte Magdeburg.....	30
Tabelle 3.2: Klinisch-pathologische Parameter und immunhistochemische Scores mit dem eIF2B5 Antikörper der Kohorte Graz .....	32
Tabelle 3.3: Klinisch-pathologische Parameter und mRNA-Expression von eIF2B-Untereinheiten der Metabric Kohorte [163].....	37
Tabelle 3.4: Signifikanzübersicht von eIF2B1 und eIF2B2.....	57
Tabelle 3.5: Signifikanzübersicht von eIF2B3 und eIF2B4.....	59
Tabelle 3.6: Signifikanzübersicht von eIF2B5.....	61
Tabelle 6.1.1: TNM-Klassifikation und UICC-Stadieneinteilung des Mammakarzinoms anhand der 8. Auflage der UICC TNM Klassifikation [27] .....	89
Tabelle 6.3.1: Vergleich der histochemischen Färbeintensität für eIF2B5 in Brustgewebe, Tumorgewebe und DCIS-Gewebe. Die statistische Signifikanz wurde mittels gepaartem Wilcoxon Test bestimmt. ....	94
Tabelle 6.3.2: Pearson-Korrelation der mRNA-Expression einzelner eIF2B-Subunits im invasiven Mamma-Karzinom basierend auf der Metabric Kohorte [163] .Fett markiert sind alle signifikanten Korrelationen über dem Schwellenwert 0,2, die einen positiven Zusammenhang anzeigen und alle Korrelationen unter dem Schwellenwert -0,2, die einen negativen Zusammenhang anzeigen.....	95
Tabelle 6.3.3: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der eIF2B1-mRNA-Expression und in Abhängigkeit klinisch-pathologischer Faktoren basierend auf der Metabric-Datenbank [163].....	97
Tabelle 6.3.4: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der eIF2B2-mRNA-Expression und in Abhängigkeit klinisch-pathologischer Faktoren basierend auf der Metabric-Datenbank [163].....	99
Tabelle 6.3.5: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der eIF2B4-mRNA-Expression und in Abhängigkeit klinisch-pathologischer Faktoren basierend auf der Metabric-Datenbank [163].....	102
Tabelle 6.3.6: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der eIF2B5-mRNA-Expression und in Abhängigkeit klinisch-pathologischer Faktoren basierend auf der Metabric-Datenbank [163].....	104
Tabelle 6.3.7: Überlebensdaten in Abhängigkeit der mRNA-Expressionen von eIF2B1 basierend der Datenbanken des KM-Plotters [166,167].....	107

Tabelle 6.3.8: Überlebensdaten in Abhängigkeit der mRNA-Expressionen von eIF2B2 basierend der Datenbanken des KM-Plotters [166,167] .....	110
Tabelle 6.3.9: Überlebensdaten in Abhängigkeit der mRNA-Expressionen von eIF2B3 basierend der Datenbanken des KM-Plotters [166,167] .....	113
Tabelle 6.3.10: Überlebensdaten in Abhängigkeit der mRNA-Expressionen von eIF2B4 basierend der Datenbanken des KM-Plotters [166,167] .....	116
Tabelle 6.3.11: Überlebensdaten in Abhängigkeit der mRNA-Expressionen von eIF2B5 basierend der Datenbanken des KM-Plotters [166,167] .....	119



# Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1.: Indirekte Antikörperfärbemethode – Schematische Darstellung.....	22
Abbildung 3.1: Beispiele für die eIF2B5-Expression in Brustdrüsenparenchym, Carcinoma in situ und invasivem Mammakarzinom.....	34
Abbildung 3.2: Überleben in Abhängigkeit der immunhistochemischen eIF2B5-Expression der Magdeburger Kohorte, dargestellt als Kaplan-Meier-Kurven .....	41
Abbildung 3.3.: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B1 basierend auf der Metabric-Kohorte [163] beim Mammakarzinom.....	43
Abbildung 3.4: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B2 basierend auf der Metabric-Kohorte [163] beim Mammakarzinom und bei erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom .....	44
Abbildung 3.5.: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B4 basierend auf der Metabric-Kohorte [163] beim Mammakarzinom.....	45
Abbildung 3.6.: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B5 basierend auf der Metabric-Kohorte [163] beim Mammakarzinom und bei erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom .....	47
Abbildung 3.7.: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B1 basierend auf dem KM-Plotter [166, 167] beim Mammakarzinom und bei erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom .....	49
Abbildung 3.8.: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B2 basierend auf dem KM-Plotter [166, 167] beim Mammakarzinom und bei erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom .....	50
Abbildung 3.9: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B3 basierend auf dem KM-Plotter [166, 167] beim Mammakarzinom und bei erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom .....	52
Abbildung 3.10: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B4 basierend auf dem KM-Plotter [166, 167] beim Mammakarzinom und bei erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom .....	53
Abbildung 3.11: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B5 basierend auf dem KM-Plotter [166, 167] beim Mammakarzinom .....	55
Abbildung 6.1.1.: Algorithmus für die Primärtherapie nach Onkopedia [43] .....	90
Abbildung 6.1.2: Algorithmus für die adjuvante endokrine Systemtherapie nach Onkopedia [43].....	91
Abbildung 6.1.3.: Algorithmus für die Therapie im Rezidiv und bei Fernmetastasierung nach Onkopedia [43].....	91

Abbildung 6.1.4.: Schematische Darstellung der Struktur und Funktion von eIF2 sowie Regulation durch eIF2B. Kombiniert und modifiziert aus Pavitt [132] und Wortham et. al. [141].....	92
Abbildung 6.2.1.: Beispiele für die Färbeintensität der eIF2B5-Expression der beiden immunhistochemischen Kohorten und Positivkontrolle .....	93
Abbildung 6.3.1: Punktdiagramme der Korrelationen der mRNA-Expression zwischen den einzelnen eIF-Subunits der Metabric-Kohorte (heruntergeladen von <a href="http://www.cbioportal.org">www. https://www.cbioportal.org</a> [163] ...	96
Abbildung: 6.3.2: Überleben in Abhängigkeit der eIF2B1-mRNA-Expression der Metabric Kohorte [163], dargestellt als Kaplan-Meier Kurven.....	98
Abbildung 6.3.3: Überleben in Abhängigkeit der eIF2B2-mRNA-Expression der Metabric Kohorte [163], dargestellt als Kaplan-Meier Kurven.....	101
Abbildung 6.3.4: Überleben in Abhängigkeit der eIF2B4-mRNA-Expression der Metabric Kohorte [163], dargestellt als Kaplan-Meier Kurven.....	103
Abbildung 6.3.5: Überleben in Abhängigkeit der eIF2B5-mRNA-Expression der Metabric Kohorte [163], dargestellt als Kaplan-Meier Kurven.....	106
Abbildung: 6.3.6: Gesamtüberlebensanalyse in Abhängigkeit der eIF2B1-Expression mit Hilfe des KM-Plotters [166,167] .....	108
Abbildung: 6.3.7: Krankheitsfreies Überleben in Abhängigkeit der eIF2B1-Expression mit Hilfe des KM-Plotters [166,167] .....	109
Abbildung: 6.3.8: Gesamtüberlebensanalyse in Abhängigkeit der eIF2B2-Expression mit Hilfe des KM-Plotters [166,167] .....	111
Abbildung: 6.3.9: Krankheitsfreies Überleben in Abhängigkeit der eIF2B2-Expression mit Hilfe des KM-Plotters [166,167] .....	112
Abbildung: 6.3.10: Gesamtüberlebensanalyse in Abhängigkeit der eIF2B3-Expression mit Hilfe des KM-Plotters [166,167] .....	114
Abbildung: 6.3.11: Krankheitsfreies Überleben in Abhängigkeit der eIF2B3-Expression mit Hilfe des KM-Plotters [166,167] .....	115
Abbildung: 6.3.12: Gesamtüberlebensanalyse in Abhängigkeit der eIF2B4-Expression mit Hilfe des KM-Plotters [166,167] .....	117
Abbildung: 6.3.13: Krankheitsfreies Überleben in Abhängigkeit der eIF2B4-Expression mit Hilfe des KM-Plotters [166,167] .....	118
Abbildung: 6.3.14: Gesamtüberlebensanalyse in Abhängigkeit der eIF2B5-Expression mit Hilfe des KM-Plotters [166,167] .....	120

Abbildung 6.3.15: Krankheitsfreies Überleben in Abhängigkeit der eIF2B5-Expression mit Hilfe des KM-Plotters [166,167] .....	122
--	-----

# 1. Einleitung

## 1.1. Mammakarzinom

### 1.1.1. Epidemiologie

Weltweit ist das Mammakarzinom der maligne Tumor mit der höchsten Inzidenz und zudem mit fast sieben Prozent die fünfthäufigste Todesursache [2]. Für Frauen ist es der häufigste prävalente maligne Tumor weltweit und ist zudem auch für die meisten tumor-assoziierten Todesfälle verantwortlich.

Auch in Deutschland ist es für Frauen das Karzinom mit der höchsten Inzidenz im Jahr 2020. Geschlechterübergreifend weist es zudem die höchste Neuerkrankungsrate auf und ist die dritthäufigste Krebstodesursache [2].

Auch Männer können an Brustkrebs erkranken. Die Prävalenz ist niedrig und auch in dieser Studie waren nur Patientinnen-Daten vorhanden, so dass das Mammakarzinom des Mannes kein Bestandteil dieser Dissertation ist.

Innerhalb der Vereinigten Staaten von Amerika und auch in Deutschland wird jeder achten Frau (12,8%) eine derartige Diagnose gestellt. Das Lebenszeitrisko an Brustkrebs zu versterben, liegt in den USA bei 3,4% [3,4]. Obwohl aufgrund fortschrittlicher Therapien [5] die Überlebensraten gestiegen sind, ist vor allem der Zeitpunkt der Diagnosestellung stark mit der Prognose assoziiert [6–9], weshalb eine möglichst frühe Diagnosestellung und Screening-Untersuchungen unabdinglich sind.

### 1.1.2. Vorsorge

Beim Mammakarzinom spielt die Vorsorge eine große Rolle. So ist das Screening mittels Mammographie für eine frühe Diagnosestellung wichtig. Es ist auch die einzige Methode mit gesicherter Reduktion der Brustkrebsmortalität [10,11]. Dennoch hat es Limitationen und detektiert nicht jeden Tumor. In Metaanalysen [12] konnte lediglich in der Altersgruppe von 40-50 Jahren ein Benefit gefunden werden, wobei die „number needed to treat“ bei 350 gescreenten Patientinnen liegt. Zudem gibt es auch falsch-positive Ergebnisse, so dass es zu einer vermehrten Rate an vermeintlich positiven Karzinomen kommt und konsekutiv zu einer möglichen Überbehandlung [9,13]. Nicht zuletzt deshalb ist es notwendig, andere Früherkennungsmaßnahmen wie Tumormarker, zu untersuchen, um das Patienten-Outcome und die Überlebenschancen der Patientinnen zu verbessern.

Weitere Möglichkeiten der bildgebenden Verfahren, neben der Mammographie, sind der Ultraschall und die Magnetresonanztomographie (MRT), wobei sowohl Ultraschall als auch das MRT eine hohe Rate falsch-positiver Befunde aufweisen und nicht als Screening genutzt werden sollten [13–15]. Dennoch ist es ratsam, bei eingeschränkter mammographischer Beurteilbarkeit (zum Beispiel durch eine hohe mammographische Dichte der Brust) eine Sonographie akzessorisch durchzuführen, um die Sensitivität des Screenings zu erhöhen [14–16].

### 1.1.3. Ätiologie

#### **Risikofaktoren:**

Unter den Risikofaktoren muss man zwischen endogenen (inneren) und exogenen (von außen zugefügten) Risikofaktoren unterscheiden.

Bei den endogenen Risikofaktoren ist zuerst das Alter zu nennen [17–19]. Die Inzidenz von Brustkrebs steigt mit zunehmendem Lebensalter.

Auch der Menopausen-Status, also ob sich eine Frau bei Diagnosestellung vor oder nach der Menopause befindet, macht einen Unterschied. So steigt zwar die Inzidenz durch das zunehmende Alter auch in der Postmenopause, jedoch ist der Anstieg weniger stark ausgeprägt als bei prämenopausalen Frauen.

Dieser Punkt legt nahe, dass Brustkrebs eine hormon-abhängige Krankheit ist, weshalb die Östrogen- und Progesteron-Konzentrationen auch zu den endogenen Risikofaktoren gehören. Da Frauen in ihrem Leben abhängig vom Alter, Pubertät und Schwangerschaft unterschiedliche Hormonkonzentrationen im Gewebe haben, ergeben sich folgende Risikosituationen, die mit einem erhöhten Brustkrebs-Risiko einhergehen: Frühe Pubertät bzw. frühe erste Menarche, späte erste Geburt eines Kindes und späte Menopause [3].

Zu den exogenen Risikofaktoren ist die orale Einnahme von Hormonen, sei es als orale Kontrazeption oder als postmenopausale Hormon-Substitutionstherapie, zu nennen [3,5]. Des Weiteren gelten Tabakkonsum [20] und erhöhter Alkoholkonsum [21] als exogene Risikofaktoren für die Entstehung eines Mammakarzinoms.

#### **Familiäres Mammakarzinom**

Neben dem sporadisch auftretenden Mammakarzinom gibt es auch das hereditäre Mammakarzinom. Bekannte Genmutationen finden sich dabei im *p53*-Gen, *PTEN*-Gen, *PALB-2*-Gen und vor allem bei Frauen im Alter von 20 bis 29 Jahren spielen die *BRCA*-Gene 1 und 2 eine wichtige Rolle [22,23]. Umgekehrt erkranken Frauen mit einer *BRCA1*- oder *BRCA2*-Mutation circa 20 Jahre früher und ihr Lebenszeitrisko, an einem Mammakarzinom zu erkranken, beträgt ungefähr 60% [24]. Interessanterweise weisen *BRCA1*-assoziierte Mammakarzinome dabei einen charakteristischen Typ auf. Während sie histologisch häufig ein schlecht differenziertes (G3) invasives Karzinom mit medullären Eigenschaften sind, verhalten sie sich immunhistochemisch triple negativ [25,26]. Demgegenüber lassen sich *BRCA2*-assoziierte Mammakarzinome phänotypisch nicht einfach vom sporadisch auftretenden Mammakarzinom unterscheiden.

### 1.1.4. Klassifikation

Wie bei fast allen Tumoren lässt sich das Mammakarzinom anhand der TNM-Klassifikation einteilen. Diese berücksichtigt die Größe des Primärtumors (T), die Metastasierung in regionäre Lymphknoten (N) und in andere Organe (M). Basierend auf der TNM-Klassifikation lässt sich das Mammakarzinom

in UICC-Stadien einteilen, die wiederum für die Therapieentscheidung herangezogen werden. Zu diesem Zeitpunkt ist die achte Auflage von der UICC TNM Klassifikation gültig und in Tabelle 6.1.1. verändert dargestellt [27].

### 1.1.5. Pathologie und (Immun-) Histologie

Es lassen sich unterschiedliche histologische Veränderungen von Hyperplasie über atypische Veränderungen bis zum duktalem und lobulärem Carcinoma in situ (DCIS, LCIS) und letztendlich dem invasiven Karzinom vermerken.

#### **Duktales Carcinoma in situ (DCIS):**

Das duktale Carcinoma in situ kann als obligate Vorstufe zum invasiven Karzinom gesehen werden. Während sowohl beim DCIS als auch beim invasiven Karzinom die Atypie von den Drüsenendstücken ausgeht, so liegt der Hauptunterschied beim Überschreiten der Basalmembran, was per definitionem nur beim invasiven Karzinom vorkommt [28].

Die Inzidenz des DCIS beträgt in Deutschland circa 5.500 Neuerkrankungen pro Jahr und ist somit in den letzten Jahrzehnten gestiegen [4].

#### **Lobuläre intraepitheliale Neoplasien:**

Als weitere Vorstufe beziehungsweise Risikoläsion werden lobuläre intraepitheliale Neoplasien angesehen. Diese werden unterteilt in die atypische lobuläre Hyperplasie (ALH) und das lobuläre Carcinoma in situ (LCIS). Hierbei geht die Atypie von den Milchdrüsenläppchen (Lobuli) aus und beschränkt sich auf die terminalen Milchgänge (sog. Terminale duktulo-lobuläre Einheiten). Die atypische lobuläre Hyperplasie weist einen geringen Befall der Atypie als das lobuläre Carcinoma in situ auf [29]. Auch hier wird jeweils die Basalmembran nicht durchbrochen.

#### **Invasives Karzinom – Histologische Typen:**

Der häufigste histologische Typ ist das invasive Karzinom ohne speziellen Typ (NST), das in ca. 75% der Fälle vorkommt und früher duktales Karzinom genannt wurde. Wie der Name vermuten lässt, umfasst es eine Gruppe von Tumoren, die keinem speziellen histologischen Typ zugeordnet werden können. Demnach muss es per definitionem ein nicht spezielles Muster in über 50% seiner Masse zeigen [25].

Zu circa 25% findet sich ein invasives Karzinom mit speziellem Typ, das wiederum unterteilt wird in das invasiv-lobuläre Karzinom (ca. 15%) und weitere seltener vorkommende histologische Subtypen wie zum Beispiel das tubuläre, cribriforme, muzinöse, metaplastische, apokrine, papilläre, mikropapilläre, inflammatorisches Mammakarzinom und das Mammakarzinom mit medullären Eigenschaften. [25,30].

**Grading:**

Bei jedem invasiven Mammakarzinom soll zudem ein histologisches Grading erfolgen [29]. Dies erfolgt nach der von Elston und Ellis modifizierten Einteilung von Bloom und Richardson. Dabei werden sowohl die Tubulusbildung, die Kernpolymorphie als auch die Mitoserate miteinbezogen (vgl. Tabelle 1.2.) [31].

Merkmal	1 Punkt	2 Punkte	3 Punkte
<b>Tubulusbildung</b>	> 75%	10 – 75%	< 10%
<b>Kernpolymorphie</b>	Gering	mittelgradig	stark
<b>Mitoserate</b>	0-5 / 10 High power fields	6 – 11 / 10 High power fields	> 12 / 10 High power fields
<b>Auswertung:</b>			
G1	3 – 5 Punkte	gut differenziert	geringer Malignitätsgrad
G2	6 – 7 Punkte	mäßig differenziert	mäßiger Malignitätsgrad
G3	8 – 9 Punkte	schlecht differenziert	hoher Malignitätsgrad

Tabelle 1.1: Kriterien des Gradings für das Mammakarzinom nach Elston und Ellis

**Rezeptorstatus:**

Mammakarzinome können zudem noch immunhistochemisch weiter unterteilt werden, was vor allem aus therapeutischer Sicht sinnvoll ist, da sich je nach Rezeptorstatus verschiedene Therapiemöglichkeiten ergeben.

Mammakarzinome können auf Östrogene und Progesterone reagieren, weshalb der Rezeptorstatus bestimmt werden sollte [29]. Dabei gilt ein Mammakarzinom als Progesteron- bzw. Östrogenrezeptor positiv, wenn sich immunhistochemisch mindestens 1% positiv gefärbte Tumorzellkerne nachweisen lassen [32–35].

Ein weiterer Rezeptorstatus, der aus therapeutischen Gründen untersucht werden sollte, ist der HER2/neu-Status. Dieser lässt sich sowohl immunhistochemisch über eine Protein-Überexpression, und in unklaren Fällen (Intensität 2+ (schwache Membranfärbung und leichte Färbung in mehr als 10% der Tumorzellen, oder komplette Membranfärbung und intensive Färbung in weniger als 10% der Tumorzellen)) zusätzlich über eine in-situ-Hybridisierung (Genamplifikation) nachweisen [36].

Triple negative Mammakarzinome sind definiert als Östrogen-, Progesteron- und HER2-negativ.

**Proliferationsindex Ki-67:**

Der Proliferationsindex Ki-67 ist ein Marker der Proliferationsaktivität des Tumors. Dementsprechend spricht ein hoher Index für ein schnelles Tumorwachstum. Derzeit gibt es keine einheitlichen Grenzwerte, wobei gesagt werden kann, dass bei einem Ki-67-Proliferationsindex von  $\geq 25\%$  von einem erhöhten Risiko auszugehen ist. Somit kann der Index als unabhängiger prognostischer Faktor gewertet

werden kann, da die Prognose der Tumoren mit einer hohen Ki-67-Positivität signifikant schlechter ist als die der Ki-67-niedrigexprimierenden Tumoren [29].

### Intrinsische Subtypen:

Im Jahr 2000 wurde zudem auf Basis von Genexpressionsanalysen eine molekulare Subtypisierung des Mammakarzinoms vorgenommen [37]. Diese Subtypen unterschieden sich hinsichtlich ihres klinischen Verlaufs und dem Therapieansprechen. Zur Vereinfachung wurde eine simplere Klassifikation etabliert, die auf die bereits etablierten klinisch verwendeten immunhistochemischen Kriterien zurückgreift (vgl. Tabelle 1.3.) [38–40].

<u>Intrinsischer Subtyp</u>		<u>Hormonrezeptorstatus</u> ( <u>Östrogenrezeptor-</u> & <u>Progesteronrezeptorstatus</u> )	<u>HER2-Status</u>	<u>Ki-67 Proliferationsindex</u>
<b>Luminal A</b>		+	-	niedrig
<b>Luminal B</b>	<b>HER2-negativ</b>	+	-	hoch
	<b>HER2-positiv</b>	+	+	niedrig / hoch
<b>HER2-positiv</b>		-	+	niedrig / hoch
<b>Basal like</b>		-	-	niedrig / hoch

Tabelle 1.2: Klassifikation des Mamma-Karzinoms in die intrinsischen Subtypen an Hand immunhistologischer Marker [38–40]

Das immunhistologisch definierte TNBC (triple negative breast cancer) entspricht in vielen Aspekten dem intrinsischen Subtyp des basal-like Mammakarzinoms welches durch eine Hochregulation von Genen, die mit der Zellproliferation in Verbindung stehen, gekennzeichnet ist („Zytokeratine 5/6, 14, 17, 19“, „P-Cadherin“, „EGFR“). Hormonrezeptoren und HER2-Gene sind bei diesem Subtyp wenig exprimiert. Meistens sind diese Tumore triple negativ, bis zu 10% dieser Karzinome sind aber Östrogen- und HER-2-neu positiv [41].

Das TNBC wird durch unterschiedliche Gen-Expressionsmuster in weitere sechs Subtypen unterteilt. Zwei basal-like (BL1- und BL2) Subtypen, welche eine höhere Expression von Zellzyklus regulierenden Genen haben und damit ein höheres Ansprechen auf Cisplatin haben.

Die mesenchymalen (M-) und mesenchymale-stem-like (MSL) Subtypen haben vermehrt Gene, die eine hohe Proliferation aufweisen (incl. Ki-67), mehr auf mTOR-Inhibitoren und abl/src-Inhibitoren ansprechend. Der luminal androgene Rezeptor (LAR) Subtyp wird vermehrt über den Androgen Rezeptor Signalweg angesprochen und ist damit gut durch Androgen-Rezeptor-Antagonisten therapierbar. Zuletzt gibt es noch den immunmodulatorischen Subtyp (IM), der vermehrte Aktivität in der Immunzellregulation zeigt [42].



### 1.1.6. Therapie

Die Therapie des Mammakarzinoms ist komplex und abhängig von verschiedenen Faktoren, wie zum Beispiel dem Stadium, dem Rezeptorstatus und nicht zuletzt abhängig von patientenindividuellen Eigenschaften und Komorbiditäten. Die unterschiedlichen Therapiemöglichkeiten werden zudem miteinander kombiniert. Grundsätzlich lässt sich unterscheiden zwischen der lokoregionären Therapie (Operation und Radiotherapie) und der (neo)-adjuvanten systemischen Therapie, bestehend aus Chemotherapie, Hormontherapie und Antikörpertherapie.

Eine Übersicht über den Therapiealgorithmus für die Primärtherapie des Mammakarzinoms ist in Abbildung 6.1.1. dargestellt.

#### **Operation:**

Hauptziel und Verfahren der Wahl ist die komplette Entfernung des Tumors (R0-Resektion) [29,44–46]. Dies ist sowohl über eine brusterhaltende Operation (BET = Brusterhaltende Therapie) als auch über eine komplette Entfernung der Brust (Mastektomie) möglich. Fisher et al. konnten zeigen, dass eine partielle Mastektomie (teilweise Entfernung der Brust) in Kombination mit einer Radiotherapie den gleichen Überlebenserfolg bringt wie die komplette Mastektomie [47]. Einen größeren Einfluss als das Ausmaß der Exzision spielen dabei anscheinend die Resektionsränder. So ist es hinsichtlich eines Lokalrezidivs und auch der Effektivität der Boost-Bestrahlung prognostisch besser, wenn eine R0-Resektion geschaffen wurde, also die Resektionsränder tumorfrei sind [45,46,48].

Zusätzliches Ziel einer jeden onkologischen Brustoperation ist neben der vollständigen Entfernung des Karzinoms die Beibehaltung möglichst viel gesunden Gewebes und der Form und Kontur der Brust. Daher sollte, wenn möglich, die brusterhaltende Therapie erste Therapieoption sein. Indikationen für die BET sind: Duktales Carcinoma in situ (DCIS), invasives Karzinom mit günstiger Relation der Tumorgröße zum Brustvolumen und jegliches invasive Karzinom mit intraduktaler Begleitkomponente, solange die Resektionsränder im Gesunden verlaufen [29].

Da dies in einigen Fällen schwierig sein kann, besteht die Möglichkeit, mit einer neoadjuvanten Therapie (Chemotherapie oder Hormontherapie) die Größe des Primärtumors präoperativ zu verkleinern. Ist dies nicht möglich, so ist eine radikale Mastektomie notwendig, bei der der komplette Drüsenkörper und je nach Verfahren weitere Anteile entfernt werden. Für die Mastektomie gelten demnach folgende Indikationen: Vorherige unkomplette Entfernung des Tumors, inflammatorisches Mammakarzinom, bei Kontraindikationen zur Nachbestrahlung nach BET, wenn eine Bestrahlung unbedingt notwendig ist, sowie der Patientinnen-Wille [29,49–51].

Im Anschluss kann mithilfe der plastischen Chirurgie ein kosmetisch gutes Ergebnis erzielt werden, wobei häufig die kontralaterale Brust aus Symmetriegründen mitoperiert wird. Eine Möglichkeit besteht in der Anwendung von Brustimplantaten. Eine abgewandte Form der radikalen Mastektomie ist die hautsparende Mastektomie, bei der das Brustparenchym entfernt, während Haut und Brustwarzen erhalten bleiben [3].

Neben der Operation an der Brust ist auch die Axilla als mögliches Lymphabflussgebiet und demnach auch möglicher lymphogener Metastasierungsort von besonderem diagnostischem und therapeutischem Interesse.

Während früher die Axilladisektion (Entfernung aller Lymphknoten in der Achsel) Methode der Wahl war, konnte dies durch die Sentinel-Lymphonodektomie (SLNE) in den meisten Fällen abgelöst werden [29,44,52–54]. Bei dieser Methode wird der Wächterlymphknoten (Sentinel-Lymphknoten) detektiert, entfernt, und im Schnellschnitt untersucht [3]. Zur Detektion des Sentinel-Lymphknotens eignet sich die präoperative Farbstoffmarkierung, die nuklearmedizinische Markierung mit Technetium<sup>99</sup> oder die Kombination beider Verfahren [52,55,56]. In Abhängigkeit des Schnellschnitt-Befundes des Sentinel-Lymphknotens werden dann weitere axilläre Lymphknoten entfernt, wobei bei klinisch auffälligen positiven Nodalstatus diese Lymphknoten auch bei bioptisch negativem Befund mit entfernt werden sollen [29,54,57].

### **Radiotherapie:**

Die Bestrahlung spielt sowohl bei der brusterhaltenden Therapie als auch bei der Mastektomie eine Rolle und ist eine effektive Maßnahme, um das Risiko für ein Lokalrezidiv zu vermindern. Wird im Anschluss an die brusterhaltende Therapie bestrahlt, so sinkt einerseits das lokale Rezidivrisiko als auch die 15-Jahres-Mortalität [58]. Eine Bestrahlung nach radikaler Mastektomie vermindert auch das Risiko eines Rezidivs und verbessert das Gesamtüberleben [59]. Daher ist nach brusterhaltender Therapie die adjuvante Radiotherapie momentan Mittel der Wahl sowohl bei allen invasiven Mammakarzinomen als auch Mittel der Wahl nach radikaler Mastektomie bei lokal fortgeschrittenen oder nodal-positiven Mammakarzinomen [3,29,60].

Dabei gibt es verschiedene Möglichkeiten, wie die Bestrahlung durchgeführt wird. Standardmäßig wird in einem fünf- bis sechswöchigen Intervall mit einer Gesamtdosis von 50 Gy bestrahlt. Eine weitere Möglichkeit ist die hypofraktionierte Bestrahlung, bei der in 15 – 16 Sitzungen über drei bis fünf Wochen eine Gesamtdosis von 40 Gy verabreicht wird [29]. Studien zeigten, dass beide Therapieregime ähnliche Ergebnisse hervorbringen [61–64]. Bei letzterer wird die Anzahl der Bestrahlungen verringert, während die Einzeldosis einer Fraktion steigt. Trotzdem sinkt im Vergleich zur konventionellen Bestrahlung die Gesamtdosis (Fraktionen \* Einzeldosis). Dies bringt den Vorteil eines verkürzten Behandlungszeitraums (3-5 Wochen vs. 5-6 Wochen) sowie geringere akute Hautreaktionen und verminderten Spätfolgen bei gleicher lokaler Tumorkontrolle [62,65]. Die hypofraktionierte Bestrahlung kann somit bei allen Patientinnen benutzt werden. Einzige Ausnahme ergibt sich bei der Notwendigkeit der Lymphknotenbestrahlung. Für diese Subgruppe gibt es noch keine ausreichend valide Studienlage [29].

Häufig wird, vor allem bei jüngeren Patientinnen, eine Boost-Bestrahlung durchgeführt, bei der zusätzlich mit 10 – 16 Gy das Tumorbett bestrahlt wird. Obwohl es keinen Überlebensvorteil mit sich bringt, senkt es die lokale Rezidivrate [66,67]. Dieser Effekt ist bei jungen Patientinnen besonders

ausgeprägt und der Effekt der Boost-Bestrahlung verhält sich indirekt proportional zum zunehmenden Alter [67], so dass die Boost-Bestrahlung allen prämenopausalen (und damit jüngeren) Patientinnen sowie älteren (postmenopausalen) Patientinnen mit erhöhten Risikofaktoren, wie schlecht differenziertes Mammakarzinom (G3-Grading), HER2-positive oder triple-negative Mammakarzinome und Mammakarzinome größer als 2 cm ( $> T1$ ), zu empfehlen ist [29,66,67]. Auch primär inoperable Mammakarzinome sollen in Anschluss an eine neoadjuvante Therapie mit anschließender Operation nachgehend eine Strahlentherapie erhalten. Dies ist vor allem bei sogenannten lokal fortgeschrittenen Mammakarzinomen der Fall, die entweder mindestens ein T3- oder ein N2-Status in der TNM-Klassifikation [27] erfüllen [68,69].

**Chemotherapie:**

2001 konnten Eifel et al. zeigen, dass es zu einer Prognoseverbesserung innerhalb aller Altersgruppen kommt, wenn Patientinnen mit einer Karzinomgröße größer als 1 cm eine systemische Chemotherapie erhalten [70].

Während die Wirkung der Chemotherapie mit höherem Lebensalter nachlässt [29,71], ist der größte Prognoseeffekt vor allem bei Patientinnen mit positivem Nodalstatus zu sehen, so dass nodal-positive Mammakarzinome eine Indikation für die adjuvante Chemotherapie sind. Weitere Indikation für die adjuvante Chemotherapie findet sich bei Hormonrezeptor-negativen, triple-negativen, schlecht differenzierten (Grading G3) Mammakarzinomen und Patientinnen mit einem jungen Erkrankungsalter ( $< 35$  Jahre) [29,50,71]. Vor allem bei jungen Frauen (jünger als 50 Jahre) scheint die adjuvante Chemotherapie einen positiven Effekt sowohl auf die Rezidiv-Wahrscheinlichkeit als auch auf die Überlebenswahrscheinlichkeit zu haben, wobei dieser Effekt, wenn auch nicht so stark wie bei jungen Frauen, auch bei älteren (postmenopausalen) Frauen vorhanden ist [72]. Weitere Studien zeigten, dass eine Chemotherapie mit Taxanen das Überleben verbessert [73], so dass als Mittel der Wahl momentan eine Kombination aus Anthracyclinen und Taxanen benutzt wird [29,74–79]. Zudem ist die adjuvante Chemotherapie simultan zur Anti-HER2-Therapie mit Trastuzumab bei HER2-positiven Mammakarzinomen indiziert [29]. Das Rezidivrisiko kann mit Hilfe molekularpathologischer Tests („OncotypeDX Recurrence Score“ (RS), „EndoPredict“ (EP), „Prosigna Prediction Analysis of Microarray 50“ (PAM 50) und „Breast Cancer Index“ (BCI)) zusätzlich abgeschätzt werden [80].

Wie oben beschrieben ist zudem die neoadjuvante Chemotherapie eine Möglichkeit die Tumorgöße präoperativ zu verkleinern und somit einen operablen Status herbeizuführen [81]. Dies ist indiziert bei lokal fortgeschrittenen, primär inoperablen oder inflammatorischen Mammakarzinomen [29]. Den Einfluss des Alters untersuchend, konnte Wolmark et al. zeigen, dass auch die präoperative Chemotherapie bei prämenopausalen Frauen, und demnach auch jüngeren Frauen, einen größeren Effekt hat als bei postmenopausalen älteren Frauen [82].

### **Hormontherapie:**

Wie bereits oben erwähnt ist Brustkrebs eine hormonabhängige Krankheit, weshalb eine Antihormontherapie eine mögliche Therapieoption bei hormonrezeptor-positivem Mammakarzinom ist [54]. Zur Hormonablation stehen dabei sowohl chirurgische als auch medikamentöse Optionen zur Auswahl. Chirurgisch steht dabei die bilaterale Adnexektomie im Vordergrund, bei der beide Ovarien entfernt werden. Wesentlich häufiger wird jedoch die medikamentöse Kastration bevorzugt, bei der entweder GnRH-Analoga (Gonadotropin-Releasing-Hormon-Analoga), in Kombination mit Tamoxifen oder Aromatase-Hemmer benutzt werden. Adjuvante medikamentös endokrine Therapien reduzieren dabei bei Hormonrezeptor-positiven Mammakarzinomen die Rezidiv-Wahrscheinlichkeit und erhöhen auch die Überlebenswahrscheinlichkeit [83,84].

Tamoxifen als selektiver Östrogenrezeptor-Modulator ist dabei das Mittel der Wahl und kann sowohl in der Prä- als auch in der Postmenopause verabreicht werden und ist bei prämenopausalen Frauen First-Line-Therapie [29,84]. Als Alternative für prämenopausale Frauen stehen GnRH-Analoga zur Verfügung [29], während Aromatasehemmer in der Postmenopause gegeben werden können und in dieser Subgruppe Tamoxifen sogar überlegen sind [85–88].

Auch bei dieser systemischen Therapiealternative besteht die Möglichkeit einer primären Hormontherapie. Dies kann für postmenopausale Frauen erwogen werden, wenn weder eine Operation noch eine Chemotherapie erwünscht sind. Auch hier sollen, wie bei der adjuvanten Therapie, Aromatasehemmer benutzt werden [89–91].

### **Antikörpertherapie:**

Eine weitere Möglichkeit der systemischen Therapie liegt in der Antikörpertherapie, die bei HER2-positiven Karzinomen und einem Tumordurchmesser größer 1 cm indiziert ist [29]. Medikament der Wahl ist dabei der monoklonale Antikörper Trastuzumab (Herceptin®), welcher gegen den humanen epidermalen Wachstumsfaktorrezeptor 2 (HER2) wirkt. Trastuzumab wird dabei zusätzlich zur Chemotherapie für 1 Jahr gegeben [50,54] und konnte das Rezidivrisiko um die Hälfte und das Mortalitätsrisiko um ein Drittel senken [92–97]. Als zusätzlichen Kombinationspartner gibt es noch Pertuzumab (Perjeta®), welches ein humanisierter monoklonaler IgG1-Antikörper gegen HER2 ist und in Kombination mit Trastuzumab und Docetaxel in metastasierten, oder lokal rezidivierenden inoperablen Fällen gegeben wird [98]. Des Weiteren können Antikörper-Cytostatika-Konjugate zum Einsatz kommen. Diese werden im Abschnitt „Therapie im metastasierten Stadium“ näher beschrieben. Eine weitere neuere Option in der systemischen Therapie ist die Check-Point-Inhibitor-Therapie. Ein mögliches Target der Check-Point-Inhibitor-Therapie ist PD-L1.

PD-L1 ist ein Transmembranprotein, welches sich auf den Tumorzellen befindet und in HER2/neu positiven und triple-negativen Mammakarzinomen vermehrt exprimiert wird [99,100].

Pembrolizumab und Atezolizumab können an PD-L1 binden und den Liganden so deaktivieren.

Atezolizumab, ein Antikörper gegen PD-L1, kann dabei in Kombination mit nab-paclitaxel beim triple-negativen Mammakarzinom gegeben werden, wenn die Tumorzellen PD-L1 exprimieren.

Indiziert ist Atezolizumab beim lokal fortgeschrittenen triple-negativen Mammakarzinom, welches nicht reseziert werden kann, als auch beim metastasierten triple-negativen Mammakarzinom [101,102]. Pembrolizumab, ebenfalls Antikörper gegen PD-L1, kann beim metastasierten triple-negativen Brustkrebs gegeben werden und sollte als Erstlinientherapie gewählt werden, wenn PDL-1 hoch exprimiert ist [103–105].

### **Therapie im metastasierten Stadium:**

Leider entwickeln weiterhin ein Drittel aller Patientinnen mit Brustkrebs Fernmetastasen, beispielsweise in Knochen, Lunge, Pleura, Gehirn oder Leber, Haut und Weichteile [29]. Für Patientinnen im fernmetastasierten Stadium beträgt das mediane Überleben weniger als drei Jahre, so dass bei Vorliegen einer Fernmetastase eine palliative Therapiesituation vorliegt. Hauptziel in diesem Krankheitsstadium ist die Verbesserung der Lebensqualität sowie die Lebensverlängerung. Dies wird vor allem durch die systemischen Therapien erreicht, wobei bei Patientinnen mit einer isolierten Metastase in nur einem Organ auch eine Operation versucht werden kann [3,106].

Wie bei jeder palliativen Situation gilt es die erheblichen Nebenwirkungen der systemischen Therapien gegenüber der Ansprechrate und dem möglichen Benefit der Therapie abzuwägen.

Wie auch beim kurativen Stadium wird die Hormontherapie vor allen bei Östrogenrezeptor-positiven Mammakarzinomen gegeben, da die endokrine Therapie weniger toxisch als eine Chemotherapie ist [54,107–109]. Chemotherapie sollte hingegen bei Östrogenrezeptor-negativen und HER2-Rezeptor-negativen Patientinnen zugeführt werden [29]. Dabei sollte ein Chemotherapeutikum ausgewählt werden, welches die Patientin in einer vorherigen (möglicherweise in kurativer Absicht) erfolgten Therapie noch nicht bekommen hat. Anstelle einer Polychemotherapie sollte aufgrund besserer Verträglichkeit eine Monochemotherapie erfolgen [110]. Patientinnen, die ein Mammakarzinom mit einer HER2-Überexpression haben, sollten eine Kombination aus Chemotherapie und Anti-HER-2-Therapie mittels Trastuzumab bekommen [108,111,112].

Bei einem Rezidiv eines metastasierten HER-2-positiven Mammakarzinoms (nach zuvor gegebener Chemotherapie mit einem Taxan in Kombination mit Trastuzumab) kann zudem Trastuzumab Emtansine (Kadcyla®) gegeben werden, ein Konjugat, welches aus Trastuzumab und dem Mikrotubuli-inhibierenden Maytansinoid DM-1 (ein Chemotherapeutikum) besteht. Es wurde im Rahmen der „EMILIA-Studie“ zugelassen [113].

Zudem steht ein weiteres Konjugat, bestehend aus dem Wirkstoff Trastuzumab und Deruxtecan (Enhertu®) zur Verfügung, welches eine höhere Überlebensrate aufweist, als Kadcyla® [114].

Deruxtecan ist dabei ein zytotoxischer Toposiomerase-Hemmstoff, der die Mitose in HER-2-positiven Mammakarzinom-Zellen hemmt.

Radiotherapie kann zudem genutzt werden, um Symptome der Fernmetastasen zu lindern. Dies ist vor allem bei Knochenmetastasen und einhergehendem Knochenschmerz gut möglich [3]. Eine weitere Gruppe in der Therapie des metastasierten Mammakarzinoms stellen die CDK4/6-Inhibitoren da. Sie hemmen die Aktivität der Zellzyklus-regulierenden Cyclin-abhängigen Kinasen.

Bei prämenopausalen Frauen werden die CDK4/6-Inhibitoren mit Antiöstrogenen kombiniert [29,115,116], während sie bei postmenopausalen Frauen mit einem Aromatasehemmer kombiniert werden sollen [29,117]. Die CDK4/6-Inhibitoren (Palbociclib®, Ribociclib®, Abemaciclib®) hemmen die Aktivität der Zellzyklus-regulierenden cyclinabhängigen Kinasen. Die Kombination zeigte in Studien ein verlängertes progressionsfreies Überleben [118].

Relativ neu sind die PARP-Inhibitoren (Olaparib® und Talazoparib®), welche ebenfalls eine Therapieoption im metastasierten Stadium bei HER2-negativen Mammakarzinomen darstellen. PARP-Inhibitoren haben jedoch nur eine Wirkung bei Patientinnen, die eine BRCA-1- und 2-Mutation vorweisen [119].

### 1.1.7. Prognostische und prädiktive Faktoren

#### **Prognostische Faktoren:**

Als einer der wichtigsten prognostischen Faktoren gilt dabei die TNM-Klassifikation.

Die Größe des Primärtumors spielt dabei eine wichtige Rolle (T-Status), da diese, wie auch die Größe und die Anzahl der Lymphmetastasen (N-Status) mit einer schlechteren Überlebenswahrscheinlichkeit einhergehen [3]. Sobald eine Fernmetastase nachzuweisen ist (Stadium IV nach UICC), liegt ein palliativer Therapieansatz vor, so dass der M-Status auch als prognostisch ungünstig gilt.

Zusätzlich ist das L- und V-Stadium und damit das Vorliegen einer peritumoralen (Lymph-, und / oder Blut-) Gefäßinvasion ein wichtiger prognostischer Faktor [120,121]. Insbesondere für nodal-negative T1-Tumoren ist das Risiko für ein Rezidiv oder die Entwicklung einer Fernmetastase bei Vorliegen einer peritumoralen (Lymph-) Gefäßinvasion signifikant erhöht [122,123].

Ein weiterer prognostisch ungünstiger Faktor ist das Grading. Je schlechter das Mammakarzinom differenziert ist, desto höher ist dabei der Malignitätsgrad. Eine Einteilung des Gradings kann mithilfe des Systems von Elston und Ellis vorgenommen werden [31].

#### **Prädiktive Faktoren**

Da es unterschiedliche Therapiemöglichkeiten gibt, sind zur Einschätzung der Wirkung dieser weitere prädiktive Faktoren unabdingbar, die im Rahmen der Therapieplanung erhoben werden sollten. So ist zur Einschätzung adjuvanter systemischer Therapien im Hinblick auf eine endokrine Systemtherapie die Bestimmung des Hormonrezeptorstatus, des Menopausen-Status und, für eine zielgerichtete Anti-HER-2-Therapie, der HER2-Status sinnvoll [124,125]. Im Hinblick auf eine neoadjuvante Systemtherapie ist zusätzlich das Alter, der TNM-Status, der histologische Typ und das Grading wichtig [126,127]. Dabei sprechen Mammakarzinome mit dem Ziel der Komplettremission besser auf eine neoadjuvante Systemtherapie an, wenn die Patientinnen ein junges Erkrankungsalter haben, die Mammakarzinome Hormonrezeptor- und HER2-negativ sind, der größte Tumordurchmesser maximal 5 cm beträgt und/oder die Tumoren schlecht differenziert (G3) sind.

Für die Chemotherapie mit Anthrazyklinen und Taxanen gibt es prädiktive Faktoren, die die Wahrscheinlichkeit des Therapieansprechens erhöhen: Junges Erkrankungsalter, Mammakarzinome mit maximal 5 cm Tumorgöße (max. T2-Stadium), nodal-negative (N0), schlecht-differenzierte (G3), Hormonrezeptor-negative und triple-negative Mammakarzinome [29].

## 1.2. eIF2 und eIF2B

### 1.2.1. eIF2

#### **Struktur und Funktion:**

Der eukaryontische Initiationsfaktor 2 ist ein wichtiger Bauteil in der Translation, also in dem Vorgang, in der die Erbinformation von mRNA-Ebene in Proteine umgeschrieben wird.

eIF2 (eukaryotic initiation factor 2) besteht aus 3 Untereinheiten, welche von  $\alpha$  bis  $\gamma$  durchnummeriert werden. Er entfaltet seine Wirkung während des Initiationsprozesses der Translation. Dieser wird im Folgenden näher beschrieben:

Anfangs bildet sich ein ternärer Komplex, bestehend aus der Initiator-Methionyl-tRNA, dem Initiationsfaktor eIF2 und GTP. eIF2 ist dabei der Vermittler zwischen der Bindung von Methionyl-tRNA und der 40S-Untereinheit der Ribosomen. Zusammen mit weiteren Initiationsfaktoren (eIF1A und eIF3) bilden sie den 43S-Präinitiationskomplex.

Zusammen mit dem Initiationsfaktor eIF4, welches an die mRNA bindet, bilden sie den 48S-Initiationskomplex. Dieser bewegt sich entlang der mRNA, bis er das passende Startcodon (AUG) findet und bindet es unter Hydrolyse von GTP zu GDP. Hierbei spielt weiterhin eIF5 eine katalytische Rolle, so dass dieser Schritt nur in Anwesenheit von eIF5 stattfinden kann. Dabei löst sich eIF2-GDP mit eIF5 vom Komplex ab. eIF2 ist ein G-Protein, welches im aktiven Zustand GTP und im inaktiven Zustand GDP gebunden hat. eIF5 stabilisiert dabei eIF2-GDP. Soll der inaktive eIF2-GDP-Komplex wieder in den aktiven eIF2-GTP-Komplex gebracht werden, so wird dafür der Nukleotid-Austauschfaktor eIF2B (s. unten) benötigt. Dieser setzt GDP frei, so dass sich an die frei werdende Austauschstelle GTP binden kann und der ternäre Komplex erneut zur Initiation gebildet werden kann [128].

Betrachtet man dabei die einzelnen Untereinheiten von eIF2, so interagiert eIF2 $\beta$  mit eIF5 und eIF2B, während eIF2 $\alpha$  phosphoryliert wird und den regulatorischen Part übernimmt [129,130].

#### **Regulation:**

Mindestens vier stressregulierte Proteinkinasen, greifen an dieser Stelle, der eIF2 $\alpha$ -Phosphorylierung, an. Die eIF2 $\alpha$ -Untereinheit wird dabei an Serin 51 phosphoryliert, wodurch eIF2 eine höhere Affinität zu eIF2B bekommt und damit als nicht-kompetitiver Inhibitor von eIF2B wirkt [131].

Die wichtigsten Proteinkinasen, die die eIF2-Aktivität regulieren, werden im Folgenden vorgestellt:

Zum einem wäre die heme-regulated inhibitor of translation-Kinase (HRI) zu nennen, welche vor allem in Retikulozyten die Globin-Synthese an den Häm-Vorrat anpasst und somit die Hämoglobinsynthese steuert. Häm bindet dabei an HRI und inaktiviert diese. Existiert wenig Häm, so verlässt HRI die Bindung an Häm und wird dabei aktiviert [132]. Die aktivierte HRI-Kinase sorgt für eine eIF2 $\alpha$ -Phosphorylierung, wodurch eIF2 eine höhere Affinität zu eIF2B bekommt, welche und die Translation hemmt.



Als zweites ist die Protein Kinase R (PKR) zu nennen. Die PKR phosphoryliert dabei eIF2B in einen inaktiven Komplex, der die Translation hemmt [133,134]. Sie spielt vor allem in der antiviralen Immunantwort eine Rolle, da sie durch Bindung an eine Doppel-Strang-RNA aktiviert wird, wie es bei manchen Virus-Infektionen der Fall ist. Findet in Zellen eine virale Replikation statt, so wird vermehrt doppelsträngige RNA generiert, welche wiederum PKR aktiviert. Die PKR hemmt die Translation, sodass kein weiteres virales Protein entstehen kann und das Virus in seiner Vermehrung gehemmt wird [134].

Des Weiteren vermittelt die PKR einen Splice-Vorgang (Herausschneiden nicht codierter Bereiche aus dem RNA-Stang) auf der mRNA, welche für den TNF (Tumornekrosefaktor) codiert. Dieses Splicen ist dabei auch von eIF2-alpha abhängig [135].

Eine weitere Kinase ist die PERK (PKR-like endoplasmic reticulum kinase), welche auch PEK (pancreatic eIF2 kinase) genannt wird. Diese ist ein Protein, welches einen luminalen Anteil im endoplasmatischen Retikulum hat und dort auf zellulären Stress, ausgehend von falsch gefalteten Proteinen, reagiert. Akkumulieren fehlgefaltete Proteine im ER, so wird PERK aktiviert und inhibiert somit die Translation der Proteine [132,136,137].

Als letzte zu nennende Kinase, welche die alpha-Untereinheit von eIF2 phosphorylieren kann, ist die general control non-repressed 2 (GCN 2) Kinase zu nennen. Sie wird durch ernährungsbedingten Stress aktiviert, wie es bei Ernährungsentzug und Ernährungsmangelzuständen der Fall ist [138,139].

Werden also sowohl die HRI, PERK als auch die PKR aktiviert, so kommt es zu einer Inhibierung der globalen Proteinsynthese in den betroffenen Zellen. Aktiviert werden diese Enzyme als Antwort auf wechselnde pathologische Umstände wie zum Beispiel Mangelernährung, virale Infektionen und oxidativer Stress und können somit als „integrated stress response“ angesehen werden [131].

### 1.2.2. eIF2B und eIF2B5

eIF2B ist der Nucleotid-Austausch-Faktor von eIF2 und besteht aus 5 Polypeptiden, welche der Größe nach von  $\alpha$  bis  $\epsilon$  durchnummeriert werden. Die kodierenden Gene werden entsprechend eIF2B1 bis -5 benannt. eIF2B ist ein Dekamer aus jeweils zwei dieser Proteine. Die Komplexe können in zwei unterschiedliche Funktionseinheiten unterteilt werden. So besteht der katalytische Sub-Komplex aus den Untereinheiten eIF2B $\gamma$  und eIF2B $\epsilon$ , während der regulatorische Sub-Komplex aus den Untereinheiten eIF2B $\alpha$ , - $\beta$  und  $\delta$  besteht [140,141].

Der im nachfolgenden Abschnitt beschriebene Regulationsprozess der eIF2 $\alpha$ -Phosphorylierung, findet dabei vor allem an der fünften ( $\epsilon$ ) Untereinheit des eIF2B-Komplexes statt [132].

eIF2-GDP kann erst wieder durch Austausch von GDP mit GTP zu eIF2-GTP in seine aktive Form eIF2-GTP unter Abspaltung von eIF5 umgewandelt werden [128,141]. Dies passiert durch eIF2B, welches als GDP-Dissoziations-Stimulator-Protein fungiert [130,142]. Somit ergibt sich, dass eine reduzierte eIF2B-Aktivität die Translation hemmt, da weniger aktives eIF2-GTP gebildet werden kann [130].

Aber auch eIF2B kann direkt reguliert werden und somit die eIF2-Aktivität und folglich die Translation hemmen. Hierbei spielen vier Proteinkinasen (CK1, CK2, DYRK (dual-specificity tyrosine phosphoprylated and regulated kinase) und GSK3 (Glykogen Synthase Kinase 3)) eine Rolle, wobei GSK3, den Haupteinfluss auf die eIF2B-Aktivität nimmt.

Die GSK3-Aktivität ist insulinabhängig. Liegt Insulin vor, so wird die GSK3-Aktivität inhibiert, eIF2B wird dephosphoryliert und ist somit aktiv. Wird eIF2B durch GSK3 phosphoryliert, wird eIF2B inaktiv und die Translation wird gehemmt. Dies spielt eine Rolle in der Apoptose [132,143]. Wie bereits oben erwähnt findet der Austausch von GTP und GDP jeweils an der Epsilon-Untereinheit, also der fünften Untereinheit des eIF2B-Komplexes statt, welche multiple Phosphorylierungsstellen besitzt [143,144]. Ein weiterer onkogener Weg ist der PI3K (phosphatidylinositol-3-kinase)/ AKT-Pathway, welcher auch GSK3 phosphoryliert und somit die Translation hemmt [145].

### 1.2.3. Klinische Relevanz

#### **Vanishing white matter disease (VWM) and childhood ataxia with central nervous system hypomyelination (CATCH):**

Mutationen in *eIF2B* können verschiedene Krankheitsbilder verursachen. So wurde 2001 ein Zusammenhang zwischen der Mutation im *eIF2B*-Gen und der neurologischen Krankheit leukoencephalopathy with vanishing white matter disease (VWM) bzw. childhood ataxia with central nervous system hypomyelination (CATCH) veröffentlicht [146]. Dabei handelt es sich um eine rezessiv vererbte Krankheit, die durch eine Missense Mutation in einer der eIF2B-Untereinheiten entstehen kann. Klinisch zeigt sie sich mit einem breiten Symptomspektrum, von schwerem Krankheitsbeginn als Neugeborenes bis zu milden Krankheitssymptomen bis in das Erwachsenenalter. Wie zu erwarten ist die eIF2B-Aktivität in den betroffenen Patienten reduziert [147].

Diese Unteraktivität von eIF2B führt zu einer Hochregulation von ATF4 (activating transcription factor 4) [148], welches wiederum viele weitere Gene in ihrer Expression beeinflusst [149,150] und eine wesentliche Rolle im Aminosäuremetabolismus und der Resistenz gegenüber oxidativen Stress einnimmt [150]. Somit kommt es aufgrund der erniedrigten eIF2B-Aktivität zu einer erhöhten Stressantwort (integrative stress response) in den betroffenen Zellen ([144].

#### **eIF2-Expression und Malignität:**

Wird das unphosphorylierte eIF2 $\alpha$  überexprimiert, so findet keine Limitation der Translation statt, und es kann – vor allem in Zusammenhang mit onkogenen Stimuli – zu einer Transformation von normalen zu malignen Zellen kommen [151–153].

Aufgrund dessen, dass eIF2, bzw. eIF2 $\alpha$  eine wichtige Rolle in der Translation und somit Proliferation, malignen Transformation, Tumor-Initiation und -Progression spielt, wurden in den letzten Jahren

verschiedene Arbeiten veröffentlicht, die einen Zusammenhang zwischen verschiedenen Tumorentitäten und eIF2 und seinem Nukleotid-Austauschfaktor eIF2B zeigten:

- Mammakarzinom

Guo et al. zeigten, dass eIF2- $\alpha$  in Mammakarzinomen verstärkt phosphoryliert vorliegt und vor allem höhere Level aufweist als peritumoröses Brustgewebe. Die phosphorylierte eIF2- $\alpha$ -Konzentration kann dabei als prognostischer Indikator für triple negativen Brustkrebs dienen [154].

In Mäusen wurde gezeigt, dass die PKR bzw. p-eIF2- $\alpha$  das Wachstum in HER2-positiven Brustkrebs supprimieren kann [155]. Des Weiteren kann Trastuzumab in HER-2-positiven Brustkrebszellen die PKR induzieren und somit die weitere Proliferation hemmen. Für Patientinnen, die eine Therapie mit Trastuzumab und Chemotherapie bekommen haben, konnte hierbei auch gezeigt werden, dass ein erhöhter p-eIF2 $\alpha$ -Level als positiver prognostischer Marker hinsichtlich der Überlebenswahrscheinlichkeit angesehen werden kann [156]. Gleichzeitig kann phosphoryliertes eIF2 $\alpha$  als möglicher Biomarker für die Wirksamkeit einer Trastuzumab-Therapie benutzt werden [157].

- Kolorektales Karzinom

Palaniappan et al. konnten zeigen, dass das *eIF2B5*-Gen ein Treiber in der Progression von Kolorektalen Karzinomen von UICC Stufe III auf UICC Stufe IV ist und somit als Biomarker für Kolorektale Karzinome benutzt werden kann [158].

- Hepatozelluläres Karzinom

Jiao et. al. konnten zeigen, dass eIF2B5 im hepatozellulären Karzinom (HCC) hochreguliert ist und, dass ein Zusammenhang zwischen der Expression von eIF2B5 und dem histologischen Grad, dem klinischen Stadium und dem Vital-Status besteht. Die Expression von eIF2B5 steigt dabei vom gut differenziertem (G1) zu schlecht differenziertem Gewebe (G4) an. Zudem konnte dabei durch Kaplan-Meier-Kurven die Hypothese untermauert werden, dass eine hohe eIF2B5-Expression mit einer schlechteren Prognose einhergeht und damit eIF2B5 als unabhängiger Risikofaktor für Leberzellkarzinome gilt und als Biomarker genutzt werden kann, auch wenn die eIF2B5-Expression keine prognostische Signifikanz auf das Krankheitsfreie-Intervall zu haben scheint [159].

- Ovarial-Karzinom

In einer Studie, untersuchend den Zusammenhang zwischen eIF2B5 und Ovarialkarzinom, konnte gezeigt werden, dass der Angiogenese-Signalweg der stärkste Prädiktor der Überlebenswahrscheinlichkeit ist. Ebenso zeigte sich, dass das *eIF2B5*-Gen und der entstehende Nukleotid-Austauschfaktor dabei den stärksten Einfluss hat. EIF2B5 soll dabei sowohl auf das Tumorwachstum als auch auf die Angiogenese fördernd wirken [160].

- B-Zell-Lymphom

---

Unterluggauer et. al. untersuchten sechzehn eIF-Untereinheiten und ihre Rolle in diffus großzelligen B-Zell-Lymphomen. Dabei wiesen zwölf dieser Untereinheiten, unter anderem auch eIF2B5, auf mRNA-Niveau eine acht- bis vierzig-fach höhere Expression in den B-Zell-Lymphomen auf als in normalen nicht-neoplastischen B-Zellen. Ähnlich wie in dieser Arbeit wurde neben der bioinformatischen Analyse von publizierten Genexpressionsdaten (mRNA-Daten) auch auf immunhistochemischer Ebene der Zusammenhang zwischen der eIF2B5-Expression und diffus großzelligen B-Zell-Lymphomen untersucht. Die immunhistochemische Expression in B-Zell-Lymphomen wurde dabei mit einer Kontrollgruppe, bestehend aus Keimzentren nicht-neoplastischer Tonsillen von zehn Patienten, verglichen und zeigte eine erhöhte Expression im malignen Gewebe.

Auch eine Überlebensanalyse wurde in Abhängigkeit von der mRNA- und immunhistochemischen Expression durchgeführt. Dabei konnte gezeigt werden, dass sowohl eine höhere Expression von eIF2B5 auf mRNA-Niveau als auch auf immunhistochemischer Ebene mit einem schlechteren Outcome assoziiert ist.

Trotz der niedrigen Patientenzahl in den immunhistochemischen Kohorten (n (DLBCL-Gruppe) = 49 vs. n (Kontrollgruppe) = 10) konnte so gezeigt werden, dass eIF2B5, sogar auf immunhistochemischer Ebene, als prognostischer Marker im diffusen großzelligen B-Zell-Lymphom genutzt werden kann [161].

### 1.3. Zielsetzung

Wie in Kapitel 1.2. aufgezeigt wurde, spielen eIF2 und dessen Regulator eIF2B eine wichtige Rolle in mehreren malignen Tumoren. Auch im Mammakarzinomen wurde bereits aufgezeigt, dass phosphoryliertes eIF2 $\alpha$  sowohl eine prognostische Funktion als auch eine Biomarker-Funktion übernehmen könnte [154,156,157]. Daraus ergibt sich die Hypothese, dass auch eIF2B als Nukleotid-Austausch-Faktor von eIF2 – und vor allem dessen regulatorische  $\epsilon$ -Untereinheit – im Mammakarzinom einen hohen Stellenwert für die Tumorbilogie besitzt.

In dieser Arbeit wird daher eIF2B und eIF2B5 im Besonderen untersucht.

Ähnlich der Studie von Unterluggauer et al. [161] wurden daher in dieser Studie zunächst Mammakarzinome auf ihr immunhistochemisches Expressionsverhalten bezüglich eIF2B5 untersucht. Im Folgenden wurde auch die bioinformatische Ebene mit einbezogen, um hierbei auch Unterschiede und Vergleiche zwischen den unterschiedlichen Ebenen der Genexpression hervorbringen zu können. Dabei sollen die folgenden Fragen detailliert beantwortet werden:

- Bestehen Unterschiede in der Expression von eIF2B5 auf mRNA-Level als auch in der immunhistochemischen Expression in Bezug auf die Subtypen des Mammakarzinoms?
- Gibt es Unterschiede in der immunhistochemischen Expression von eIF2B5, wenn einzelne Subgruppen der Mammakarzinome betrachtet werden?
- Gibt es auf mRNA-Ebene Unterschiede in der Expression der einzelnen eIF2B-Untereinheiten?
- Gibt es einen Einfluss zwischen klinisch-pathologischen Daten und der Expression der unterschiedlichen eIF2B-Untereinheiten?
- Ist eIF2B5 ein möglicher Tumormarker für Mammakarzinome entweder auf mRNA oder auf immunhistochemischer Ebene?
- Verhält sich die Expression von eIF2B5 auf mRNA-Ebene analog zur immunhistochemischen Ebene?
- Dient eIF2B5 als Prognosefaktor für Mammakarzinome bzw. Subgruppen von Mammakarzinomen?

---

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Material

#### 2.1.1. Patientenkollektive und Genexpressions-Datensätze

In meiner statistischen Analyse wurden mehrere Patientenkollektive einbezogen, die unterschiedlich untersucht wurden. Aufgrund dessen wurden in dieser Arbeit sowohl unterschiedliche Kohorten als auch unterschiedliche Untersuchungsmethoden miteinander verglichen.

##### **Immunhistochemische Kohorte Universität Magdeburg**

Immunhistochemisch wurden zwei Patientenkollektive untersucht. Einerseits handelte es sich um ein Patientenkollektiv des Instituts für Pathologie der Otto-von-Guericke Universität Magdeburg [162] und andererseits ein Patientenkollektiv des Instituts für Pathologie der Universität Graz. Die Ausgangskohorte des Patientenkollektivs aus Magdeburg bestand aus 276 Patientinnen, bei denen ein Mammakarzinom im Zeitraum von 1999 – 2005 [162] diagnostiziert wurde. Die patientenbezogenen Daten wurden aus den histopathologischen Befunden des Institutes für Pathologie des Universitätsklinikum Magdeburgs und aus den Krankenakten der Universitätsfrauenkliniken und weiteren Klinken des Universitätsklinikums Magdeburgs ermittelt. Für alle Patientinnen wurde das Alter, das TNM-Stadium, incl. L- und V-Status, das histologische Grading, sowie der histologische Typus, der Rezeptoren-Status, der Proliferationsindex ki67, der Menopausen-Status, sowie die Art der zugeführten Therapie (Radiotherapie, Chemotherapie, Hormontherapie) und die Möglichkeit eines Rezidivs unter Tamoxifen, sowie Diabetes Mellitus als Komorbidität erfasst. Diese Informationen wurden mit der Histologie-Nummer verschlüsselt tabellarisch aufgearbeitet. Weitere klinische Daten, wie das Rezidivdatum, Sterbedatum und die Follow-Up-Zeit wurden letztmalig im Mai 2019 aktualisiert. Sowohl Stanzbiopsien als auch Resektate primärer Mammakarzinome mit ausreichendem histologischen Untersuchungsmaterial wurden eingeschlossen. Aufgrund fehlenden Materials konnten von dieser Ausgangskohorte 162 Fälle bezüglich eIF2B5 immunhistochemisch gefärbt werden, so dass alle weiteren der Ursprungskohorte angehörigen Fälle ausgeschlossen wurden. Ein weiteres Ausschlusskriterium für die retrospektive Studie war eine unzureichende Datenlage bezüglich der oben genannten aufgenommenen Daten. Für diese Untersuchung lag ein Ethikvotum der Ethik-Kommission der Otto-von-Guericke Universität Magdeburg vor (Aktenzeichen der Ethik-Kommission der Otto-von-Guericke Universität an der Medizinischen Fakultät und am Universitätsklinikum Magdeburg: 104/13).

##### **Immunhistochemische Kohorte Universität Graz**

Das Patientenkollektiv aus Graz bestand aus 49 Patientinnen, bei denen ein Mammakarzinom diagnostiziert wurde. Auch bei dieser Kohorte wurden patientenbezogene Daten mit den histopathologischen Befunden unter der Histologie-Nummer verschlüsselt tabellarisch aufgearbeitet. Zu

den patientenbezogenen Daten gehörten hierbei der Rezeptoren-Status, der ki67-Proliferationsindex, die RCB-Klassifikation, sowie das Alter und das TNM-Stadium. Einschluss- und Ausschlusskriterien entsprachen der Kohorte der Universität Magdeburg. Auch für diese Untersuchung lag ein Ethikvotum sowie ein Folge-Ethikvotum der Ethik-Kommission der Medizinischen Universität Graz vor (Aktenzeichen der Ethik-Kommission der Medizinische Universität Graz: 28-008 ex 15/16).

### Metabrie Kohorte

Neben dem Formalin-fixierten in Paraffin eingebettetem Material, welches aus den Patientenkollektiven gesammelt wurde und immunhistochemisch untersucht wurde, analysierten wir noch die molekularbiologischen Daten aus der Studie „Metabrie“ (Molecular Taxonomy of Breast Cancer International Consortium) [163]. Diese Studie hatte zum Ziel, Brustkrebs durch die molekulare Struktur detailliert zu klassifizieren. Dabei wurden Proben von 2506 Brustkrebs-Geweben hinsichtlich Gen-Expressionen und -Mutationen, klinisch-pathologischen Daten und klinischen Follow-Up-Daten analysiert. Im Rahmen der Studie wurden 173 der am häufigsten mutierten Brustkrebs-Gene auf ihre Treiber-Mutation und ihre klinische Signifikanz analysiert [164]. Wir selektierten die mRNA-Expressionsdaten bezogen auf unsere zu untersuchende Gene des eIF2B-Komplexes. Die eIF2B3-Einheit wurde aufgrund fehlender Daten bei diesen Analysen nicht miteinbezogen, so dass 1904 Fälle selektiert werden konnten und von [https://www.cbioportal.org/study/clinicalData?id=brca\\_metabrie](https://www.cbioportal.org/study/clinicalData?id=brca_metabrie) [1,163,165] heruntergeladen wurden. Diesen Datensatz untersuchten wir bezüglich Tumorausdehnung (T), Nodalstatus (N), Hormonrezeptorstatus, Menopausen-Status, sowie die erhaltene Therapie (Chemotherapie, Radiotherapie und Hormontherapie). Des Weiteren untersuchten wir diese Kohorte bezüglich des Überlebens der Patientinnen.

### KM-Plotter

Die letzte Datensammlung, die wir untersuchten, wurde von dem System KM-Plotter bereitgestellt [166,167]. KM-Plotter ist eine Internetseite, die die Genexpression, klinische Daten und Lebenszeitinformatoren zu verschiedenen Tumoren zusammenstellt und Analysealgorithmen zur Verfügung stellt. Um die prognostische Relevanz verschiedener Gene herauszufinden, wurde der Datensatz anhand eines Cut-Off-Wertes der Genexpression getrennt und auf diesem zusammengestellten Datensatz basierend, Kaplan-Meier-Kurven erstellt. Dabei wurde der Cut-Off Wert vom Algorithmus der Webseite optimiert und der beste Schwellenwert ausgewählt [163,167,168].

Die Daten wurden von GEO (Gene Expression Omnibus), EGA (European Genome-phenome Archive) und TCGA (The Cancer Genome Atlas Program) automatisch heruntergeladen, so dass auf mRNA-Ebene für Brustkrebs ein Datensatz von 4929 Daten zur Verfügung stand. Wir selektierten für Brustkrebs die Gene „*eIF2B1*“, „*eIF2B2*“, „*eIF2B3*“, „*eIF2B4*“ und „*eIF2B5*“ auf mRNA-Ebene und wählten sowohl das krankheitsfreie Intervall als auch die Gesamtüberlebenszeit aus, um diese mit den Daten von Metabrie [163] und den immunhistochemischen Daten vergleichen zu können. Dabei ergab

sich für das krankheitsfreie Intervall eine Anzahl von 4929 Daten und für das Gesamtüberlebens-Intervall eine Anzahl von 1879 Daten, die in die Berechnung mit einbezogen wurden (zuletzt abgerufen am 22.02.2024 um 00.07 Uhr). Weiterhin wurde auch hier der Datensatz anhand klinisch-pathologischer Faktoren (Östrogenrezeptorstatus, HER2-neu-Status, Nodalstatus) sowie erhaltener Therapie (Chemotherapie, Hormontherapie) analysiert.



## 2.2. Methoden

### 2.2.1. Immunhistochemie

#### Anfertigung mikroskopischer Schnittpräparate:

Mithilfe eines Rotationsmikrotoms wurden die auf Eis gekühlten Paraffinblöcke 2 µm dick geschnitten und anschließend auf einen Objektträger aufgezogen. Zum Trocknen wurden diese Leerschnitte bei 60°C über Nacht im Brutschrank zur Verbesserung der Haftung am Objektträger inkubiert.

#### Entparaffinierung, Hitzevorbehandlung und Antigendemaskierung:

Die immunhistochemische Färbung und Vorbehandlung fand mit dem Ventana Bench Mark XT, einem vollständig automatisiertem Färbegerät der Firma Roche, statt.

Durch wiederholtes Aufheizen des Objektträgers bis auf 75°C gefolgt von vierminütiger Inkubation und Spülen des Objektträgers mit einem Kochpuffer wurden die Paraffinleerschnitte deparaffiniert und hitzevorbehandelt. Durch Zugabe eines Citratpuffers [169] (CC2 der Firma Roche), der bei erhöhten Temperaturen die kovalenten Formalinbindungen hydrolysiert, wurden die Antigen-Bindungsstellen frei, so dass sich ein (färbbarer) Antikörper an diese binden konnte. Dieser Vorgang nennt sich Demaskierung.

#### Immunhistochemische Färbung:

Bei der immunhistochemischen Färbung benutzten wir die indirekte Färbemethode, bei der zuerst ein primärer Antikörper (Nummer sc-55558, Santa Cruz Biotechnology Inc., Dallas, Texas, Vereinigte Staaten von Amerika [170]) an das Antigen (eIF2B5) bindet. Ein sekundärer Antikörper (HRP-Multimer), der wiederum mit einem Enzym gebunden ist, welches die Farbreaktion des Detektionssystems [171] (Ultra View DSAB Detektionskit der Firma Roche) katalysiert, bindet dann an den primären Antikörper.

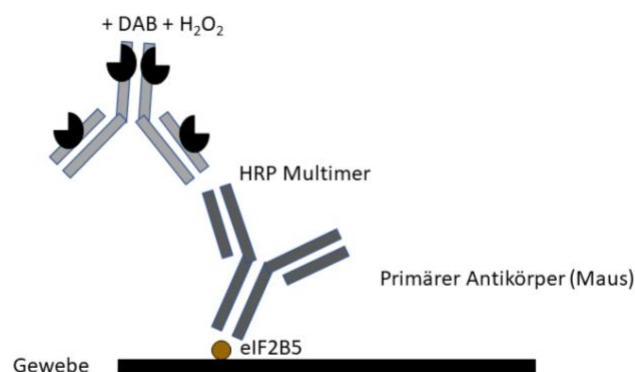


Abbildung 2.1.: Indirekte Antikörperfärbemethode – Schematische Darstellung

Per manuellem Zufügen des Immunglobulin Maus-Anti-eIF2B5-Primärantikörpers in einer Verdünnung von 1:20 mit Antikörperversdünnungspuffer band dieser nach konsekutiver 32-minütiger Inkubation sowie weiterem Aufheizen des Objektträgers auf 37°C und Spülen an die Antigenbindungsstelle. Durch wiederholtes Abspülen mit einem Waschpuffer wurde ungebundenes Material ausgewaschen. Dann wurde der sekundäre Antikörper (HRP Multimer), ein Komplex aus Ziege-Anti-Maus-Antikörper, Ziege-Anti-Kaninchen-Antikörper und Meerrettich-Peroxidase aufgetragen und für acht Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Nach wiederholtem Spülen mit dem Reaktionspuffer wurde dieser Komplex durch weitere Zugabe von Wasserstoffperoxid und 3,3-Diaminobenzidine-Tetrahydrochlorid (DAB), Chromogen und Kupfer nach weiterer Inkubation sichtbar gemacht, so dass ein braunes Präzipitat erschien. [171].

Zum Beenden der Färbereaktion wurden die gefärbten Schnittpräparate mit warmem Wasser und Spülmittel gewaschen und zuletzt in Aqua destillata überführt. Zur besseren Darstellung wurden die Zellkerne noch mit Hämalaun nach Mayer gegengefärbt und erschienen folglich blau, so dass ein positives Färberegebnis ein bräunliches Gewebe mit blauen Zellkernen zeigte. Erneut wurden die Schnittpräparate fünf Minuten mit warmem Wasser gespült. Zur Dehydrierung wurden die Schnittpräparate in einer aufsteigenden Alkohol-Reihe (75%, 96%, zweimal 100% für jeweils eine Minute) gestellt. Folgend wurden die Schnittpräparate zweimal für jeweils ein bis zwei Minuten in Xylol platziert und es erfolgte das Eindecken mit Corbit-Balsam und einem Deckgläschen.

Als Kontrollgewebe für die Färbung wurde Darmgewebe benutzt.

### **Beurteilung der immunhistochemischen Reaktion:**

Die eIF2B5-Expression der Schnittpräparate wurde mit Hilfe von Frau Dr. Susanne Sprung (vom Institut für Pathologie, Neuropathologie und Molekularpathologie der Medizinischen Universität Innsbruck) lichtmikroskopisch beurteilt und hinsichtlich ihrer Färbeintensität und dem Prozentsatz der positiv gefärbten Zellen unterteilt. Dabei wurden sowohl gesundes Brustgewebe, Carcinoma in situ Gewebe (DCIS) und Mammakarzinom-Gewebe untersucht. Die Färbeintensität wurde dabei unterteilt in negativ (keine Anfärbung (0), schwache Anfärbung (1), mäßige Anfärbung (2) und starke Anfärbung (3).

Es wurde sowohl für DCIS-, gesundes Mamma- als auch Mammakarzinom-Gewebe ein Intensitätsscore berechnet, bei dem der Prozentsatz der positiv gefärbten Tumorzellen mit der Färbeintensität multipliziert wurde. Dieses Ergebnis wurde zur anschaulicheren Auswertung durch zehn dividiert. Dieser Immunreaktive Score (IRS) reichte damit auf Grund der maximal erreichten Intensität bei der Kohorte Magdeburg von 0 – 10 und bei der Kohorte Graz von 0 – 20. Beispiele für die Färbeintensitäten sind in den Anlagen unter Abbildung 6.2.1. dargestellt.

### 2.2.2. Aufarbeitung klinisch-pathologischer Parameter der Mamma-Karzinome

#### **Tumorklassifikation:**

Die Stadieneinteilung der Karzinome erfolgte anhand der UICC TNM-Klassifikation für Mamma-Karzinome [27]. Neben der Beurteilung der Größe des Primärtumors (T), dem Lymphknotenstatus (N) und der Metastasierung (M) wurden die Schnittpräparate auf Lymphgefäßinvasion (L) und Veneninvasion (V) beurteilt.

#### **Histologische Typisierung und Grading:**

Die histologische Unterteilung erfolgte in invasiv-duktales Karzinome, invasiv-lobuläre Karzinome, sowie andere invasive histologische Subtypen.

Die Einteilung des histologischen Differenzierungsgrades des Mamma-Gewebes und somit dem histologischen Malignitätsgrad (Grading) erfolgte anhand des Systems von Elston und Ellis. Somit wurde zwischen gut (G1), mäßig (G2) und gering (G3) differenzierten Mammakarzinomen unterschieden. [31]

#### **Hormonrezeptorstatus und Proliferationsindex:**

Diese Daten wurden aus den klinisch bereitgestellten Diagnoseinformationen übernommen. Der Hormonrezeptorstatus für Progesteron- und Östrogenrezeptoren erfolgte bei der primären Beurteilung der Tumorschnittpräparate immunhistochemisch. Bei > 1 % positiven Tumorzellkernen wurden die Hormonrezeptoren als positiv eingestuft.

Der HER2/neu-Rezeptorstatus wurde ebenso zunächst immunhistochemisch bestimmt. Dabei erfolgte zunächst die Einteilung für die immunhistochemische Kohorten in keine Färbereaktion, schwache Färbereaktion, mäßige Färbereaktion und starke Färbereaktion.

Bei zweifelhaften Ergebnissen (mäßige Färbereaktion), wurde zusätzlich noch eine In-situ-Hybridisierung (ISH) durchgeführt [29,36,172]. Lag eine starke Färbereaktion vor oder war die In-situ-Hybridisierung positiv, wurde ein positiver Status (1) angenommen, ansonsten der negative (0). Für den Proliferationsindex ki-67 wurde bei einem Cut-Off-Wert von 19% eine gesteigerte ki-67-Expression angenommen [173,174].

Die METABRIC Kohorte enthielt bereits die Einteilung nach Östrogenrezeptor-, Progesteronrezeptor- und HER2/neu-Status. Für die anderen Gene wurde anhand eines Grenzwertes unterschieden, ob eine positive Expression (Status 1) oder keine Expression (Status 0) vorlag. Zur Festlegung des Grenzwertes wurde das Quartil ausgewählt, welches die höchste Signifikanz im Kaplan-Meier log rank Test zeigte.

#### **Therapien:**

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen der eIF2B5-Expression, der Therapieentscheidung und dem Therapieerfolg zu untersuchen, wurde für die immunhistochemische Kohorte aus Magdeburg

weiterhin unterschieden, mit welcher Therapie die Patientinnen behandelt wurden (Hormontherapie, Chemotherapie, Radiotherapie). Zudem wurden in Abhängigkeit der Therapie Überlebenswahrscheinlichkeiten berechnet.

Für die Patientinnen, die mit Tamoxifen therapiert wurden, wurde außerdem berücksichtigt, ob es zu einem Rezidiv unter dieser Therapie kam.

Ebenso wurde für die bioinformatische Kohorte Metabric die Genexpression der eIF2B-Subunits -1, -2, -4 und -5 in Abhängigkeit von der zugeführten Therapie analysiert und auch auf Überlebenswahrscheinlichkeiten hin untersucht. eIF2B3 war in den Daten nicht enthalten.

Für die immunhistochemische Kohorte Graz wurde zudem die RCB-Klassifikation (Residual Cancer Burden) angewandt, welche eine Einschätzung des Rezidivrisikos nach neoadjuvanter Therapie vornimmt [175].

### **Soziale Faktoren:**

Als weiterer klinischer Parameter wurde der Menopausen-Status bestimmt. So wurde für die immunhistochemische Kohorte Magdeburg und die bioinformatische Kohorte Metabric unterschieden, ob die Patientinnen zum Zeitpunkt der Erstdiagnose sich im prämenopausalen oder postmenopausalen Zustand befanden.

Weiterhin wurde das Alter bei Erstdiagnose des Mammakarzinoms als Parameter untersucht. Während für die immunhistochemische Kohorte aus Graz der Median (55,61 Jahre) als Cut-Off genommen wurde, wurde die Kohorte aus Magdeburg in 10-Jahres-Abständen subgruppiert. (30 – 39 Jahre, 40 – 49 Jahre, 50 – 59 Jahre, 60 – 69 Jahre, > 70 Jahre).

### **2.2.3. Statistische Methoden**

Die statistische Auswertung erfolgte mithilfe der Software IBM SPSS Statistics 24. Für die immunhistochemischen Kohorten wurde ein Signifikanzniveau von  $p < 0,05$  angenommen, während wir bei einem  $p$ -Wert  $< 0,1$  einen Trend sahen.

Zur besseren Vergleichbarkeit beider Kohorten wurde für den Immunreaktiven Score (IRS) ein Cut-Off-Wert von 1 festgelegt, so dass alle Schnitte mit einem Score  $> 1$  als positiv gefärbt galten.

Für die immunhistochemisch untersuchten Kohorten wurden sowohl eine deskriptive Statistik als auch die Häufigkeitsangaben berechnet. Zudem wurde der nichtparametrische Test für gepaarte Stichproben nach Wilcoxon angewandt, um einen Zusammenhang zwischen der eIF2B5-Expression in Mamma-Karzinom-Gewebe, benachbart-gesundem Gewebe und Karzinom-Gewebe mit zusätzlichen DCIS-Anteilen zu ermitteln. Mithilfe des Chi-Quadrat-Tests nach Pearson, dem zweiseitige T-Test nach Fisher und der Rangkorrelation nach Spearman wurde untersucht, ob Korrelationen zwischen der eIF2B5-Expression und klinisch-pathologischen Parametern bestehen.

Zusätzlich wurde für die immunhistochemische Kohorte Magdeburg mithilfe der Kaplan-Meier-Kurven sowohl das Gesamtüberleben als auch das rezidivfreie Überleben berechnet und graphisch dargestellt. Anfangszeitpunkt dieser Follow-Up Daten war der Zeitpunkt der Erstdiagnose. In diesem Zusammenhang wurde auch untersucht, ob klinisch-pathologische Faktoren einen Einfluss auf das Gesamt- bzw. rezidivfreie Überleben haben.

Aufgrund der höheren Fallzahl in den mRNA-basierten Kohorten (Metabric [163], KM-Plotter [166,167]) wurde bei diesen Kohorten ein signifikanter Unterschied bei einem p-Wert von  $p < 0,01$  angenommen.

Für die molekularbiologische Kohorte Metabric wurden für die mRNA-Expressionen der eIF2B-Subunits 1 ( $\alpha$ ), 2( $\beta$ ), 4( $\delta$ ) und 5 ( $\epsilon$ ) der zweiseitige T-Test nach Fisher und eine Korrelationsanalyse nach Pearson vorgenommen und zudem die Gesamt-Überlebensfunktion in Abhängigkeit der mRNA-Expression und in Abhängigkeit von klinisch-pathologischen Faktoren analysiert und mit Hilfe von Kaplan-Meier-Kurven graphisch dargestellt.

Weiterhin wurde mit Hilfe der Cox-Regression die Hazard-Ratio zur besseren Vergleichbarkeit der Subgruppen berechnet.

Für die KM-Plotter-Kohorte wurde die mRNA-Expression anhand eines Auto-Cut-Off-Wertes in niedrig und hoch exprimiert eingestuft und sowohl die Gesamtüberlebens-, als auch die krankheitsfreie Überlebenszeit mithilfe des Online-Tools graphisch dargestellt. Auch für diese Kohorte wurde die Überlebensfunktion in Abhängigkeit zu klinisch-pathologischen Faktoren untersucht und zur besseren Vergleichbarkeit die Hazard-Ratio berechnet.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Ergebnisse der immunhistochemischen Untersuchungen

##### 3.1.1. Klinisch-pathologische Daten

Die untersuchten immunhistologischen Kollektive aus Magdeburg und Graz wurden jeweils in zwei Subgruppen unterteilt, die Tumorsubgruppe und die Carcinoma in situ-Subgruppe.

##### **Patientenkollektiv aus Magdeburg**

Für die Tumorsubgruppe bestand das Kollektiv aus Magdeburg aus 162 Patientinnen mit einem mittleren Alter von 63,76 Jahren (SD: 13,13). Die älteste Patientin war 96 Jahre, während die jüngste Patientin 32 Jahre alt war. Zudem wurde die Population in 10-Jahres-Altersgruppen unterteilt (30- 39 Jahre, 40 – 49 Jahre, 50 – 59 Jahre, 60 – 69 Jahre, > 70 Jahre). Dabei stieg die Prävalenz mit jedem Lebensjahrzehnt an (0,4% in der Patientinnen-Gruppe 30 – 39 Jahre vs. 34,4% in der Patientinnen-Gruppe über 70 Jahre).

128 Patientinnen von 160 Patientinnen (80%) befanden sich in der Menopause. 94 Patientinnen wurden weiterhin auf die Komorbidität Diabetes mellitus befragt, wovon 21 (22,3 %) an Diabetes mellitus litten. Für die histologische Auswertung waren von 156 Patientinnen Proben vorhanden, wobei 125 (80%) ein invasives Karzinom ohne speziellen Typ, welches früher auch duktales Karzinom genannt wurde, aufwies, 23 Tumorschnitte (14,7%) wiesen ein invasiv-lobuläres Karzinom auf. Acht Fälle (5,1%) wiesen andere histologische Subtypen auf: fünfmal handelte es sich um ein muzinösen Typ und je einmal war der histologische Typ medullär, metaplastisch bzw. papillär vertreten. Lediglich achtzehn Fälle zeigten ein gut differenziertes Karzinom (11,3%), während 90 Fälle (56,6%) mäßig differenziert und 51 Fälle (32,1%) gering differenziert waren.

89 Patientinnen hatten mindestens ein T2-Stadium (56%), während 60 Patientinnen (38,2%) Lymphknotenmetastasen und 43 Patientinnen (28,6%) Fernmetastasen aufwiesen.

Während 110 Tumorschnitte Östrogenrezeptor positiv (69,2%) und 84 Progesteronrezeptor positiv (52,8%) waren, zeigte der HER2/neu-Rezeptor-Status in 35 Fällen (22,3%) eine Positivität auf. Der Proliferationsindex ki-67 betrug in 58 Fällen (36,9%) > 19%.

78 Patientinnen bekamen Chemotherapie (49,4%), während 112 Patientinnen bestrahlt wurden (70,4%). 129 Patientinnen erhielten eine Hormontherapie (86 Patientinnen Tamoxifen (54,4%) und 43 Patientinnen Aromatasehemmer (27,2%)). Unter den Patientinnen, die Tamoxifen erhielten, bekamen 31 Patientinnen ein Rezidiv (36%).

Die gleichen Berechnungen wurde für die Carcinoma in situ-Subgruppe erstellt, wobei dieses Kollektiv aus insgesamt 60 Tumorfällen bestand, die neben dem Primärtumor zusätzlich ein Carcinoma in situ im Mammagewebe aufwiesen. Das mittlere Patientenalter betrug in diesem Kollektiv ebenfalls 63,7 Jahre (SD: 12,5), wobei die älteste Patientin 87 Jahre und die jüngste Patientin 34 Jahre alt war. Die Carcinoma-in-situ-Subgruppe zeigte bezogen auf die klinisch-pathologischen Faktoren, eine nahezu

identische prozentuale Verteilung wie die Tumorsubgruppe, mit Ausnahme des Progesteronrezeptor-Status. Dieser war in der DCIS-Subgruppe mit 37 Fällen (61,6%) negativ. 29 Patientinnen erhielten Chemotherapie (48,3%), 46 Patientinnen wurden bestrahlt (76,7%) und 50 Patientinnen erhielten eine Hormontherapie (32 von den 50 Patientinnen Tamoxifen (53,3%), die anderen achtzehn Patientinnen erhielten Aromatasehemmer (30%)). Bei sechs Patientinnen kam es unter Tamoxifen zu einem Rezidiv (18,8%). Die klinisch pathologischen Daten der immunhistochemischen Kohorte aus Magdeburg sind in Tabelle 3.1. verzeichnet.

Klinisch-pathologischer Parameter	Tumorsubgruppe				Korrelation nach Spearman	DCIS Subgruppe				
	Tumor n (%)	eIF2B 5 Tumor r IRS low < 1/ high > 1	Chi-Quadrat nach Pearson tumor	Tumor r p Exakter Fisher Test nach Fisher (2-seitig)		DCIS n	eIF2B 5 DCIS IRS low < 1/ high > 1	DCIS p Exakter Fisher Test nach Fisher (2-seitig)	Chi-Quadrat nach Pearson DCIS	Korrelation nach Spearman
Total	162	153/9 (5,5%)				60	52/8 (13,3%)			
Rezeptorstatus										
Östrogenrezeptor	159		0,722			60		1,000		
positiv	110 (69,2%)	103/7 (6,4%)				39 (65%)	34/5 (12,8%)			
negativ	49 (30,8%)	47/2 (4,1%)				21 (35%)	18/3 (14,3%)			
Progesteronrezeptor	159		0,502			60		0,698		
positiv	84 (52,8%)	78/6 (7,1%)				23 (38,3%)	21/2 (8,7%)			
negativ	75 (47,2%)	72/3 (4%)				37 (61,6%)	31/6 (16,2%)			
HER2-neu-Status	157		0,685			60		1,000		
negativ	122 (77,7%)	114/8 (6,6%)				45 (75%)	39/6 (16,6%)			
positiv	35 (22,3%)	34/1 (2,86%)				15 (25%)	13/2 (13,3%)			
TNBC (Triple negative Breast Cancer)	157		1,000			60		1,000		
nicht triple negativ	130 (82,8%)	122/8 (6,2%)				46 (76,6%)	40/6 (13,0%)			
triple negativ	27 (17,2%)	26/1 (3,7%)				14 (23,3%)	12/2 (14,3%)			
ki67 Proliferationsindex	157		0,292			54		0,697		
high (> 19%)	58 (36,9%)	53/5 (8,6%)				21 (38,9%)	17/4 (19%)			
low (< 19%)	99 (63,1%)	95/4 (4%)				33 (61,1%)	29/4 (12,1%)			
TNM-Klassifikation										
T (Tumorausdehnung)	159		1,000			60		0,057		
< 2	70 (44,0%)	66/4 (5,7%)				35 (58,3%)	33/2 (5,7%)			

### 3. Ergebnisse

≥ 2	89 (56,0 %)	84/5 (5,6% )	25 (41,6% )	19/6 (24% )
<b>N (Lymphknotenmetastasen)</b>	<b>157</b>	<b>1,000</b>	<b>60</b>	<b>0,698</b>
positiv	60 (38,2 %)	57/3 (5% )	22 (36,6% )	20/2 (9,1% )
negativ	97 (61,8 %)	91/6 (6,2% )	38 (63,3% )	32/6 (15,8 %)
<b>M (Fernmetastasen)</b>	<b>150</b>	<b>0,716</b>	<b>57</b>	<b>0,667</b>
keine	107 (71,3 %)	101/6 (5,6% )	44 (77,2% )	37/7 (15,9 %)
Fernmetastasen	43 (28,6 %)	40/3 (6,9% )	13 (22,8% )	12/1 (7,7% )
<b>L (Lymphgefäßinfiltration)</b>	<b>103</b>	<b>1,000</b>	<b>44</b>	<b>0,619</b>
0	77 (74,8 %)	72/5 (6,5% )	35 (79,6% )	30/5 (14,3 %)
1	26 (25,2 %)	25/1 (3,9% )	9 (20,4% )	7/2 (22,2 %)
<b>V (Blutgefäßinfiltration)</b>	<b>102</b>	<b>0,115</b>	<b>43</b>	<b>1,000</b>
0	100 (98,0 %)	95/5 (5% )	42 (97,7% )	35/7 (16,7 %)
1	2 (2,0% )	1/1 (50% )	1 (2,3% )	1/0 (0% )
<b>Soziale Faktoren</b>				
<b>Alter</b>	<b>160</b>	<b>0,653</b>	<b>60</b>	<b>0,911</b>
30 – 39 Jahre	8 (5%)	8/0 (0% )	2 (3,3% )	2/0 (0% )
40 – 49 Jahre	19 (11,9 %)	18/1 (5,3% )	8 (13,3% )	8/0 (0% )
50 – 59 Jahre	29 (18,1 %)	28/1 (3,4% )	10 (16,6% )	7/3 (30% )
60 – 69 Jahre	49 (30,6 %)	45/4 (8,1% )	20 (33,3% )	17/3 (15% )
> 70 Jahre	55 (34,4 %)	52/3 (5,5% )	20 (33,3% )	18/2 (10% )
<b>Menopause</b>	<b>160</b>	<b>0,689</b>	<b>60</b>	<b>0,330</b>
postmenopausal	128 (80% )	120/8 (6,25 %)	49 (81,7% )	41/8 (16,3 %)
prämenopausal	32 (20% )	31/1 (3,1% )	11 (18,3% )	11/0 (0% )
<b>Histologie</b>	<b>156</b>	<b>0,306</b>	<b>60</b>	<b>0,544</b>
invasives Karzinom ohne speziellen Typ / duktal	125 (80,1 %)	116/9 (7,2% )	53 (88,3% )	45/8 (15,1 %)
invasives Karzinom mit speziellen Typ – lobulär	23 (14,8 %)	23/0 (0% )	3 (5%)	3/0 (0% )
andere Typen	8 (5,1% )	8/0 (0% )	4 (6,6% )	4/0 (0% )
<b>Grading</b>	<b>159</b>	<b>0,333</b>	<b>60</b>	<b>0,590</b>
1	18 (11,3 %)	16/2 (11,1 %)	7 (11,7% )	6/1 (14,3 %)



2	90 (56,6 ) %)	85/5 (5,6% )	32 (53,3% ) %)	27/5 (15,6 ) %)
3	51 (32,1 ) %)	49/2 (3,9% )	21 (35% ) %)	19/2 (9,5% )
<b>Komorbidität</b>				
<b>Diabetes mellitus</b>	<b>94</b>	<b>0,332</b>	<b>33</b>	<b>1,000</b>
ja	21 (22,3 ) %)	21/0 (0% )	9 (27,3% ) %)	8/1 (11,1 ) %)
nein	73 (77,7 ) %)	67/6 (8,2% )	24 (72,7% ) %)	19/5 (20,8 ) %)
<b>Therapie</b>				
<b>Radiotherapie</b>	<b>159</b>	<b>0,452</b>	<b>60</b>	<b>0,179</b>
ja	112 (70,4 ) %)	107/5 (4,5% )	46 (76,7% ) %)	38/8 (17,4 ) %)
nein	47 (29,6 ) %)	43/4 (8,5 )	14 (23,3% ) %)	14/0 (0% )
<b>Chemotherapie</b>	<b>158</b>	<b>0,495</b>	<b>60</b>	<b>0,465</b>
ja	78 (49,4 ) %)	75/3 (3,8% )	29 (48,3% ) %)	24/5 (17,2 ) %)
nein	80 (50,6 ) %)	74/6 (7,5% )	31 (51,7% ) %)	28/3 (9,7% )
<b>Hormontherapie</b>	<b>158</b>	<b>0,825</b>	<b>60</b>	<b>0,609</b>
keine	29 (18,4 ) %)	27/2 (6,9% )	10 (16,7% ) %)	8/2 (20% )
Tamoxifen	86 (54,4 ) %)	82/4 (4,7% )	32 (53,3% ) %)	29/3 (9,4% )
Aromatasehemmer	43 (27,2 ) %)	40/3 (7% )	18 (30% ) %)	15/3 (16,7 ) %)
<b>Rezidiv unter Tamoxifen</b>	<b>86</b>	<b>0,292</b>	<b>32</b>	<b>1,000</b>
Rezidiv	31 (36,0 ) %)	31/0 (0% )	6 (18,8% ) %)	6/0 (0% )
kein Rezidiv	55 (64,0 ) %)	51/4 (7,3% )	26 (31,2% ) %)	23/3 (11,5 ) %)

\* signifikant bei Signifikanzniveau  $p = 0,05$

Tabelle 3.1: Klinisch-pathologische Parameter und immunhistochemische Färbeintensität mit dem eIF2B5 Antikörper der Kohorte Magdeburg

### Patientenkollektiv aus Graz

Auch das Patientenkollektiv aus Graz wurde in eine Tumor- und eine DCIS-Subgruppe unterteilt. Die Tumorsubgruppe bestand aus insgesamt 30 Patientinnen, mit einem mittleren Alter von 55,6 Jahren (SD: 15,8), wobei die jüngste Patientin 31 Jahre, und die älteste Patientin 82 Jahre alt war. Während elf Patientinnen (50%) Lymphknotenmetastasen aufwiesen, wiesen alle anderen untersuchten Fälle keine Fernmetastasen auf. Siebzehn Fälle (73,9%) waren Östrogenrezeptor-positiv, vierzehn Fälle (60,9%) Progesteronrezeptor-positiv und fünf Fälle (22,7%) zeigten einen erhöhten Proliferationsindex ki-67. Die Carcinoma in situ-Subgruppe bestand aus neun Patientinnen, wobei die Gruppe ein mittleres Alter von 62,13 Jahren aufwies (SD: 16,9). Die jüngste Patientin war 31 Jahre alt und die älteste Patientin 82

Jahre. Das mediane Alter beider Subgruppen betrug 58 Jahre. Auch in dieser Subgruppe zeigte sich eine ähnliche prozentuale Verteilung der klinisch-pathologischen Parametern im Vergleich zur Tumorsubgruppe.

Die klinisch pathologischen Daten der immunhistochemischen Kohorte aus Graz sind der Tabelle 3.2. zu entnehmen.

<u>Parameter</u>	Tumorsubgruppe				DCIS Subgruppe			
	<u>Tumor n</u>	<u>eIF2B</u> <u>5</u> <u>tumor</u> <u>low &lt;</u> <u>1/</u> <u>high &gt;</u> <u>1</u>	<u>Tumor</u> <u>n</u> <u>Exakter</u> <u>Fisher</u> <u>Test</u> <u>nach</u> <u>Fisher</u> <u>(2-</u> <u>Seitig)</u>	<u>Chi-</u> <u>Quadr</u> <u>at</u> <u>nach</u> <u>Pearso</u> <u>n</u> <u>Tumor</u>	<u>Korrelati</u> <u>on nach</u> <u>Spearma</u> <u>n</u>	<u>DCIS</u> <u>n</u>	<u>eIF2B</u> <u>5</u> <u>DCIS</u> <u>low &lt;</u> <u>1/</u> <u>high &gt;</u> <u>1</u>	<u>DCIS</u> <u>n</u> <u>Exakter</u> <u>er</u> <u>Fisher</u> <u>Test</u> <u>nach</u> <u>Fisher</u> <u>(2-</u> <u>Seitig)</u>
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>17/13</b> <b>(43,3</b> <b>%)</b>				<b>9</b>	<b>7/2</b> <b>(22,2</b> <b>%)</b>	
<u>Rezeptorstatus</u>								
<b>Östrogenrezeptor</b>	<b>23</b>		<b>1,000</b>			<b>8</b>		<b>1,000</b>
positiv	17 (73,9%)	12/5 (29,4 %)				7 (87,5 %)	6/1 (14,3% )	
negativ	6 (26,1%)	5/1 (16,7 %)				1 (12,5 %)	1/0 (0%)	
<b>Progesteronrezeptor</b>	<b>23</b>		<b>1,000</b>			<b>8</b>		<b>1,000</b>
positiv	14 (60,9%)	10/4 (28,6 %)				5 (62,5 %)	4/1 (20%)	
negativ	9 (39,1%)	7/2 (22,2 %)				3 (37,5 %)	3/0 ((0%)	
<b>HER2-neu-Status</b>	<b>23</b>		<b>0,539</b>			<b>8</b>		<b>1,000</b>
negativ	20 (87,0%)	14/6 (30%)				7 (87,5 %)	6/1 (14,3% )	
positiv	3 (13%)	3/0 (0%)				1 (12,5 %)	1/0 (0%)	
<b>TNBC (Triple negative Breast Cancer)</b>	<b>23</b>		<b>1,000</b>			<b>8</b>		<b>1,000</b>
nicht triple negativ	17 (73,9%)	12/5 (29,4 %)				7 (87,5 %)	6/1 (14,3% )	
triple negativ	6 (26,1%)	5/1 (16,7 %)				1 (12,5 %)	1/0 (0%)	
<b>ki67-Proliferationsindex</b>	<b>22</b>		<b>1,000</b>			<b>8</b>		<b>1,000</b>
high (>19)	5 (22,7%)	4/1 (20%)				1 (12,5 %)	1/0 (0%)	
low (< 19)	17 (77,3%)	12/5 (29,4 %)				7 (87,5 %)	6/1 (14,3% )	
<u>TNM-Klassifikation</u>								
<b>T (Tumorausdehnung)</b>	<b>23</b>		<b>0,541</b>			<b>8</b>		<b>0,565</b>
1	13 (56,5%)	9/4 (30,8 %)				3 (37,5 %)	3/0 (0%)	
2	7 (30,4%)	5/2 (28,6 %)				4 (50%)	3/1 (25%)	

3	3 (13,1%)	3/0 (0%)	1 (12,5 %)	1/0 (0%)
<b>N (Lymphknotenmetasta sen)</b>	<b>22</b>	<b>0,149</b>	<b>7</b>	<b>0,286</b>
positiv	11 (50%)	10/1 (9,1%)	5 (71,4 %)	5/0 (0%)
negativ	11 (50%)	6/5 (45,5 %)	2 (28,6 %)	1/1 (50%)
<b>M (Fernmetastasen)</b>	<b>23</b>	<b>%</b>	<b>8</b>	<b>%</b>
keine Fernmetastasen	23 (100%)	17/6 (26,1 %)	8 (100%)	7/1 (12,5% )
Fernmetastasen	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<b>Soziale Faktoren</b>				
<b>Alter</b>	<b>23</b>	<b>0,155</b>	<b>8</b>	<b>0,250</b>
> median (58 years)	11 (47,8%)	10/1 (9,1%)	6 (75%)	6/0 (0%)
< median (58 years)	12 (52,2%)	7/5 (41,7 %)	2 (25%)	1/1 (50%)
<b>Prognoseparameter</b>				
<b>RCB class</b>	<b>13</b>	<b>0,231</b>	<b>0</b>	<b>%</b>
RCB 0	0 (0%)	0 (0%)	0	0 (0%)
RCB 1	0 (0%)	0 (0%)	0	0 (0%)
RCB 2	10 (76,9%)	5/5 (50%)	0	0 (0%)
RCB 3	3 (23,1%)	3/0 (0%)	0	0 (0%)

Tabelle 3.2: Klinisch-pathologische Parameter und immunhistochemische Scores mit dem eIF2B5 Antikörper der Kohorte Graz

### 3.1.2. Immunhistochemische Expressionsanalyse

Die Expression von eIF2B5 wurde für die Kohorte Magdeburg und Graz immunhistochemisch untersucht. Es wurde, wie erwartet, eine zytoplasmatische Färbung gesehen, da der eIF2-abhängige Teil der Proteinbiosynthese im Zytoplasma stattfindet.

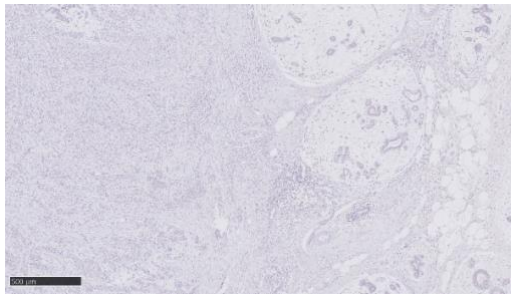
Bei der Kohorte aus Magdeburg wurden neben den 162 Fällen von invasivem Mammakarzinom, zusätzlich 134 Fälle benachbartes Brustdrüsenparenchym und 60 Fälle Carcinoma in situ untersucht. Die Grazer Kohorte bestand aus 30 Fällen mit invasivem Mammakarzinom, 31 Fälle benachbartes Brustdrüsenparenchyms und neun Fälle Carcinoma in situ Gewebe. Im Paarvergleich zeigte sich dabei lediglich für die Magdeburger Kohorte eine signifikante Korrelation zwischen der Expression von eIF2B5 im normalen Brustdrüsengewebe und im Carcinoma in situ Gewebe ( $p = 0,02$ ). Beispiele für die eIF2B5-Expression in Brustdrüsenparenchym, Carcinoma in situ und invasivem Mammakarzinom in der Grazer- und Magdeburger Kohorte sind in den Anlagen unter Abbildung 3.1. aufgeführt.

### 3.1.3. Korrelation der immunhistochemischen eIF2B5-Expression mit den klinisch-pathologischen Faktoren

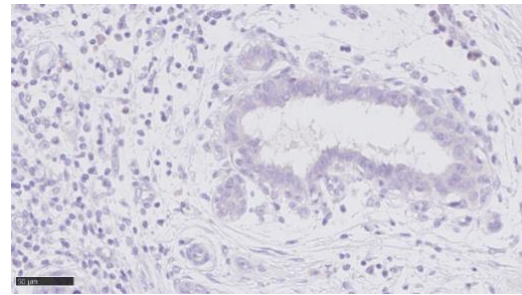
Die Daten der immunhistochemischen Expressionsanalyse wurden zudem mit den klinisch-pathologischen Faktoren korreliert und sind für die Kohorte Magdeburg in der Tabelle 3.1. und für die Kohorte Graz in der Tabelle 3.2., sowohl bezogen auf das Expressionsverhalten von invasivem Karzinom als auch von Carcinoma in situ Gewebe, aufgeführt. Signifikante Zusammenhänge zwischen der immunhistochemischen eIF2B5-Expression und den klinisch pathologischen Faktoren waren weder für die Magdeburger Kohorte noch für die Grazer Kohorte nachweisbar.

Betrachtet man die Carcinoma in situ-Gruppe, so lässt sich ein trendartiger Zusammenhang zwischen der eIF2B5-Expression und der Tumorausdehnung feststellen, wobei trendartig häufiger eine starke Anfärbung (eIF2B5 positiv) nachzuweisen war, wenn das Primärtumorstadium größer 2 innerhalb der Kohorte Magdeburg vorlag ( $p = 0,057$ ), während dies bei der Kohorte Graz nicht der Fall war, wobei in der Grazer Kohorte auch nur fünf Fälle mit einer Tumorausdehnung  $\geq 2$  beschrieben sind.

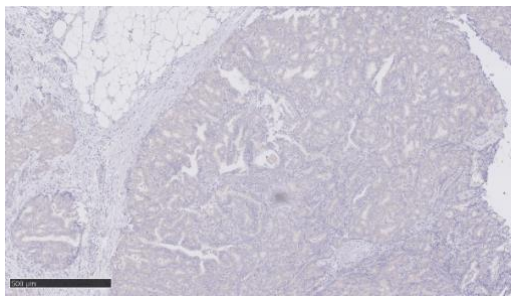
Für die Grazer Kohorte ließen sich keine trendartigen, oder signifikanten Zusammenhänge nachweisen.



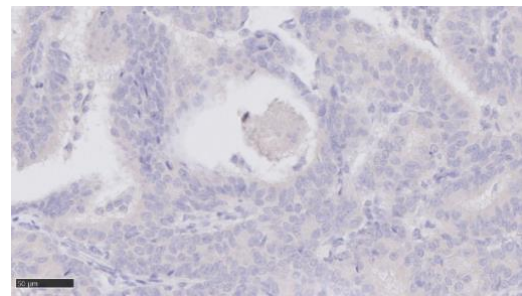
a. Tumorfreies Brustdrüsenparenchym in schwacher Färbeintensität  
(Vergrößerung: x 100, Skala: 500 µm)



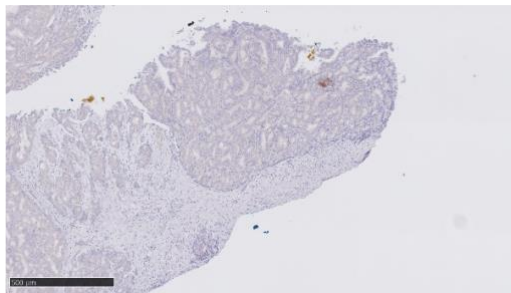
b. Tumorfreies Brustdrüsenparenchym in schwacher Färbeintensität  
(Vergrößerung: x 400, Skala: 50 µm)



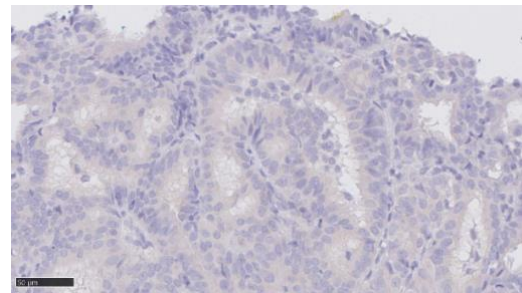
c. Carcinoma in situ in schwacher Färbeintensität  
(Vergrößerung: x 100, Skala: 500 µm)



d. Carcinoma in situ in schwacher Färbeintensität  
(Vergrößerung: x 400, Skala: 50 µm)



e. Invasives Mammakarzinom in schwacher Färbeintensität  
(Vergrößerung: x 100, Skala: 500 µm)



f. Invasives Mammakarzinom in schwacher Färbeintensität  
(Vergrößerung: x 400, Skala: 50 µm)

Abbildung 3.1: Beispiele für die eIF2B5-Expression in Brustdrüsenparenchym, Carcinoma in situ und invasivem Mammakarzinom

### 3.2. Ergebnisse der bioinformatischen Analyse von Genexpressions-Datensätzen

Die von Metabric [163] und KM-Plotter [166,167] erhobenen Microarray-Daten enthielten die mRNA-Expression von verschiedenen Subunits des eIF2B-Komplexes im invasiven Mammakarzinom [164]. Dabei wurden die mRNA-Expressionen der Subunits gegeneinander korreliert. Desweiteren wurde für jede einzelne Untereinheit ein geeigneter Schwellenwert (anhand der Überlebensanalyse) gewählt und die Expression hinsichtlich klinisch-pathologischer Daten analysiert. Um einen geeigneten Schwellenwert festzulegen, wurde für die Metabric-Kohorte die Expressionslevel der einzelnen Subunits nach Quartilen aufgeteilt und mithilfe von Kaplan-Meier-Kurven wurde das Quartil als Cut-Off gewählt, welches die „signifikantesten“ Ergebnisse hervorbrachte. Für die Kohorte Metabric wurden dabei 1904 Daten analysiert.

Bei den Daten aus dem Online-Tool KM-Plotter [166,167] war es direkt möglich, einen Auto-Cut-Off-Wert auszuwählen. Für diese Kohorte konnten 4929 für das Gesamtüberleben und 1979 Daten für das krankheitsfreie Überleben analysiert werden.

#### 3.2.1. Klinisch-pathologische Daten

Auch die von Metabric [163] untersuchten Fälle des invasiven (lobulären und duktalen) Mammakarzinoms zeigten eine ähnliche Verteilung hinsichtlich der klinisch-pathologischen Daten. 1459 bioinformatisch untersuchte Tumorschnitte waren Östrogenrezeptor-positiv (76,6%), 1009 Progesteronrezeptor-positiv (53,0%) und 236 Fälle zeigten einen HER2-neu-Rezeptor-positiven Status (12,4%). 1493 Patientinnen der untersuchten Tumoren befanden sich in der Postmenopause (78,4%). Hinsichtlich der zugeführten Therapie zeigte die bioinformatisch untersuchte Kohorte die gleiche Tendenz wie die immunhistochemisch untersuchte Kohorte. So bekamen 1174 der 1904 Patientinnen eine Hormontherapie (61,7%), 396 Patientinnen (20,8%) eine Chemotherapie und 1137 Patientinnen (59,7%) eine Radiotherapie. Die klinisch-pathologischen Daten der Metabric-Kohorte sind in der Tabelle 3.3 aufgelistet.

Die statistische Analyse erfolgte über Kreuztabellen, wobei sich der Schwellenwert zwischen hoher und niedriger Expression an den Ergebnissen der Kaplan-Meier Überlebensanalyse orientiert.

<u>Parameter</u>	<u>n</u>	<u>eiF2B1 &lt; median / &gt; median</u>	<u>Chi-Quadrat nach Pearson</u>	<u>Tumor p Exakter Fisher Test nach Fisher (2-Seitig)</u>	<u>eiF2B2 &lt; 1. Quartil / &gt; 1. Quartil</u>	<u>Chi-Quadrat nach Pearson</u>	<u>Tumor p Exakter Fisher Test nach Fisher (2-Seitig)</u>	<u>eiF2B4 &lt; 1. Quartil / &gt; 1. Quartil</u>	<u>Chi-Quadrat nach Pearson</u>	<u>Tumor p Exakter Fisher Test nach Fisher (2-Seitig)</u>	<u>eiF2B5 &lt; 1. Quartil / &gt; 1. Quartil</u>	<u>Chi-Quadrat nach Pearson</u>	<u>Tumor p Exakter Fisher Test nach Fisher (2-Seitig)</u>
<u>cutoff</u>	<u>-</u>	median			1. quartil			1. quartil			1. quartil		
<b>Total</b>	1904	952 / 952 (50%)			476 / 1428 (75%)			476 / 1428 (75%)			476 / 1428 (75%)		
<b>TNM</b>													
<b>T</b>	<b>1884</b>		<b>0,417</b>			<b>0,443</b>			<b>0,475</b>			<b>0,202</b>	
1	821 (43,6%)	416/405 (49,3%)			215 / 606 (73,8%)			217 / 604 (73,6%)			221 / 600 (73,1%)		
2	968 (51,4%)	475 / 493 (50,9%)			229 / 739 (76,3%)			236 / 732 (75,6%)			230 / 738 (76,2%)		
3	95 (5,0%)	53 / 42 (44,2%)			25 / 70 (73,7%)			21 / 74 (77,9%)			20 / 75 (79,0%)		
<b>N</b>	<b>1904</b>		<b>0,099</b>			<b>0,039</b>			<b>0,916</b>			<b>0,791</b>	
positiv	911 (47,9%)	437/474 (52,0%)			208 / 703 (77,2%)			229 / 682 (74,9%)			225 / 686 (75,3%)		
negativ	993 (52,1%)	515/478 (48,1%)			268 / 725 (73,0%)			247 / 746 (75,1%)			251 / 742 (74,7%)		
<b>Rezeptorstatus</b>													
<b>ER</b>	<b>1904</b>		<b>0,002**</b>			<b>4,5*10<sup>-4**</sup></b>			<b>0,189</b>			<b>0,005**</b>	
positiv	1459 (76,6%)	700/759 (52%)			336/1123 (77%)			354/1105 (75,7%)			342/1117 (76,6%)		
negativ	445 (23,4%)	252/193 (43,4%)			140/305 (68,5%)			122/323 (72,6%)			134/311 (69,9%)		
<b>PR</b>	<b>1904</b>		<b>0,142</b>			<b>3*10<sup>-6**</sup></b>			<b>0,015</b>			<b>1,000</b>	
positiv	1009 (53,0%)	488/521 (51,6%)			298/801 (79,4%)			229/780 (77,3%)			252/757 (75%)		
negativ	895 (47,0%)	464/431 (48,2%)			268/627 (70,1%)			247/648 (72,4%)			224/671 (75%)		
<b>HER2</b>	<b>1904</b>		<b>0,001**</b>			<b>0,200</b>			<b>0,010</b>			<b>0,668</b>	
positiv	236 (12,4%)	143/93 (39,4%)			67/169 (71,6%)			43/193 (81,8%)			56/180 (76,3%)		
negativ	1668 (87,6%)	809/859 (51,1%)			409/1259 (74,6%)			433/1235 (74%)			420/1248 (74,8%)		
<b>TNBC</b>	<b>1904</b>		<b>0,208</b>			<b>0,003**</b>			<b>2*10<sup>-4**</sup></b>			<b>0,002**</b>	
Triple Negativ	299 (15,7%)	160/139 (46,5%)			96/203 (67,9%)			101/198 (66,2%)			97/202 (67,6%)		
Nicht Triple Negativ	1605 (84,3%)	792/813 (50,7%)			380/1225 (76,3%)			375/1230 (76,6%)			379/1226 (76,4%)		
<b>Soziale Faktoren</b>													

<b>Menopause</b>	<b>1904</b>	<b>0,738</b>	<b>0,480</b>	<b>0,653</b>	<b>0,700</b>
postmenopausal	1493 (78,4%)	743/750 (50,2%)	379/1114 (74,6%)	377/1116 (74,7%)	370/1123 (75,2%)
prämenopausal	411 (21,6%)	209/202 (49,1%)	97/314 (76,4%)	99/312 (75,9%)	106/305 (74,2%)
<b>Therapie</b>					
<b>Radiotherapie</b>	<b>1904</b>	<b>0,350</b>	<b>0,052</b>	<b>0,027</b>	<b>0,094</b>
ja	1137 (59,7%)	558/579 (50,9%)	266/871 (76,6%)	305/832 (73,2%)	300/837 (73,6%)
nein	767 (40,3%)	394/373 (48,6%)	210/557 (72,6%)	171/596 (77,7%)	176/591 (77,1%)
<b>Chemotherapie</b>	<b>1904</b>	<b>0,101</b>	<b>0,948</b>	<b>0,043</b>	<b>0,016</b>
ja	396 (20,8%)	213/183 (46,2%)	98/298 (75,3%)	115/281 (71%)	118/278 (70,2%)
nein	1508 (79,2%)	739/769 (51,0%)	378/1130 (74,9%)	361/1147 (76,1%)	358/1150 (76,3%)
<b>Hormontherapie</b>	<b>1904</b>	<b>0,001**</b>	<b>2,1*10<sup>-5**</sup></b>	<b>0,044</b>	<b>0,157</b>
ja	1174 (61,7%)	550/624 (53,2%)	254/920 (78,4%)	312/862 (73,4%)	307/867 (73,9%)
nein	730 (38,3%)	402/328 (44,9%)	222/508 (69,6%)	164/566 (77,5%)	169/561 (76,8%)

\*\* : signifikant bei Signifikanzniveau p= 0,01

Tabelle 3.3: Klinisch-pathologische Parameter und mRNA-Expression von eIF2B-Untereinheiten der Metabric Kohorte [163].



### 3.2.2. mRNA-Expressionsanalyse

Vergleicht man die mRNA-Expression der einzelnen Subunits des eIF2B-Komplexes in Mammakarzinomen miteinander, so lassen sich bei einem Signifikanzniveau von  $p < 0,01$  mehrere signifikante Zusammenhänge herstellen (Tab. 6.3.2). Bei einem Schwellenwert der Korrelation von 0,2 zeigt sich eine positive Korrelation zwischen der mRNA-Expression der Subunit  $\alpha$  (eIF2B1) und der mRNA-Expression der Subunit  $\beta$  (eIF2B2). Zudem besteht auch ein positiver Zusammenhang zwischen der Expression der  $\delta$ -Subunit (eIF2B4) und der  $\varepsilon$ -Subunit (eIF2B5). Eine negative Korrelation fand sich zwischen der Untereinheit  $\beta$  (eIF2B2) und der Untereinheit  $\varepsilon$  (eIF2B5). Die eIF2B3-Einheit wurde aufgrund fehlender Daten bei diesen Analysen nicht miteinbezogen. Die Punktdiagramme der Korrelationen der mRNA-Expression zwischen den einzelnen eIF-Subunits der Metabric-Kohorte befinden sich in den Anlagen (Abbildung 6.3.1.).

### 3.2.3. Korrelation der bioinformatischen eIF2B-Expression mit den klinisch-pathologischen Faktoren

Auch die Genexpressionsdaten wurden in Bezug auf klinisch-pathologische Faktoren untersucht. Aufgrund der größeren Datenmenge wurde ein signifikanter Unterschied bei einem p-Wert von  $p < 0,01$  und ein Trend ab einem p-Wert von  $p < 0,05$  angenommen.

Bezogen auf die TNM-Klassifikation ließ sich ein trendartiger Zusammenhang bei nodal-positiven Mammakarzinomen und der Expression von eIF2B2 nachweisen ( $p = 0,039$ ). Für eIF2B2 war bei nodal-positiven Mammakarzinomen eine trendartig häufigere hohe mRNA-Expression zu verzeichnen.

Während sich für die Expression der Subunits  $\alpha$  ( $p = 0,002$ ),  $\beta$  ( $p = 4,5 \cdot 10^{-4}$ ) und  $\varepsilon$  ( $p = 0,005$ ) ein signifikanter Zusammenhang bei Östrogenrezeptor-positiven Mamma-Karzinomen zeigte, stellte sich für Progesteronrezeptor-positive Mamma-Karzinome ein signifikanter Zusammenhang bei der Expression der Subunits  $\beta$  ( $p = 3 \cdot 10^{-6}$ ) und ein trendartiger Zusammenhang bei der Expression der Subunit  $\delta$  ( $p = 0,015$ ) heraus. Zudem ließ sich mit einem  $p < 0,001$  ein signifikanter Zusammenhang zwischen HER2-negativen Mamma-Karzinomen und der Expression der eIF2B1-Subunit nachweisen, wobei HER2-neu positive Mammakarzinome häufiger eIF2B1- negativ waren.

Weiterhin war mit einem  $p = 0,01$  ein trendartiger Zusammenhang zwischen dem HER2/neu-Status und der Expression der eIF2B4-Subunit nachzuweisen.

Für die Subunits  $\beta$  ( $p = 0,003$ ),  $\delta$  ( $p = 2 \cdot 10^{-4}$ ) und  $\varepsilon$  ( $p = 0,002$ ) war zudem ein signifikanter Zusammenhang zwischen deren Expression und der Einteilung in Triple-negativen Mamma-Karzinomen gegeben. Bekamen die Patientinnen eine Hormontherapie, so zeigte sich auch in diesem Kriterium ein signifikanter Zusammenhang bei der Expression der Subunits  $\alpha$  ( $p = 0,001$ ) und  $\beta$  ( $2,1 \cdot 10^{-5}$ ). Die Patientinnen, die Hormontherapie erhielten, hatten häufiger eIF2B1-positive

Mammakarzinome, während die Patientinnen, die keine Hormontherapie erhielten, häufiger eIF2B1-negative Mammakarzinome hatten.

Bei Patientinnen, die Chemotherapie erhielten, ließ sich ein trendartiger Zusammenhang mit der eIF2B5-Expression nachweisen ( $p = 0,016$ ). Häufiger hatten diese Patientinnen ein eIF2B5-positives Mammakarzinom.

Eine genaue Auflistung der p-Werte der Expression der einzelnen Subunits und der klinisch-pathologischen Faktoren sind in Tabelle 3.3. dargestellt.

### 3.3. Überlebenszeitanalyse

Bei der Überlebenszeitanalyse untersuchten wir mithilfe der Kaplan-Meier-Methode die Abhängigkeit des Gesamtüberlebens von der eIF2B5-Expression auf immunhistochemischer Ebene für die Kohorte aus Magdeburg, als auch auf mRNA-Ebene für die Metabric-Kohorte [163] und online-bereitgestellte KM-Plotter Kohorte [166,167]. Für die mRNA-basierten Kohorten wurden weiterhin auch die Untereinheiten  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  (nur KM-Plotter [166,167]) und  $\delta$  untersucht. Für die Magdeburger Kohorte wurde zudem zwischen invasivem Mamma-Karzinom-Gewebe und zusätzlichem Carcinoma-in-situ-Gewebe unterschieden. Die immunhistochemische Magdeburger Kohorte und die KM-Plotter-Kohorte wurden zudem zusätzlich auf das rezidivfreie Überleben analysiert. Aufgrund fehlender Überlebenszeitdaten konnte eine Überlebenszeitanalyse für die Grazer-Kohorte nicht durchgeführt werden. Des Weiteren wurde mithilfe der Cox-Regression die Hazard-Ratio für die jeweiligen Überlebenskurven berechnet. Betrachtet wird dabei vorwiegend die Hazard Ratio und die Signifikanz der Kaplan-Meier-Kurven und weniger das mittlere und mediane Überleben, da vor allem das Erstere aufgrund der Verteilung und Anzahl zensierter Fälle beeinträchtigt sein kann. Weiterhin konnte der Median nicht bei allen Datensätzen berechnet werden, da die Überlebenskurven teilweise nicht unter 50% fielen.

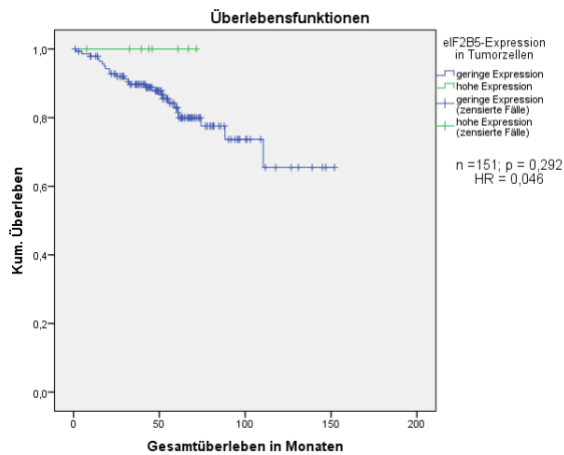
#### 3.3.1. Korrelation der immunhistochemischen eIF2B5-Expression mit dem Überleben

Für Patientinnen mit einem Mammakarzinom konnte keine mittlere Gesamtüberlebenszeit berechnet werden, da es sich in den eIF2B5-positiven Fällen nur um zensierte Fälle handelte. Aus Abbildung 3.2. lässt sich aber entnehmen, dass die immunhistochemische eIF2B5-Expression keinen signifikanten Unterschied ( $p = 0,292$ ;  $HR = 0,046$ ) auf die Gesamtüberlebenszeit hat. Gleiches gilt auch bezogen auf das krankheitsfreie Intervall ( $p = 0,119$ ;  $HR = 0,046$ ). Es fällt aber auf, dass kein eIF2B5 positiver Fall im Beobachtungszeitraum ein Rezidiv oder ein Todesereignis hatte.

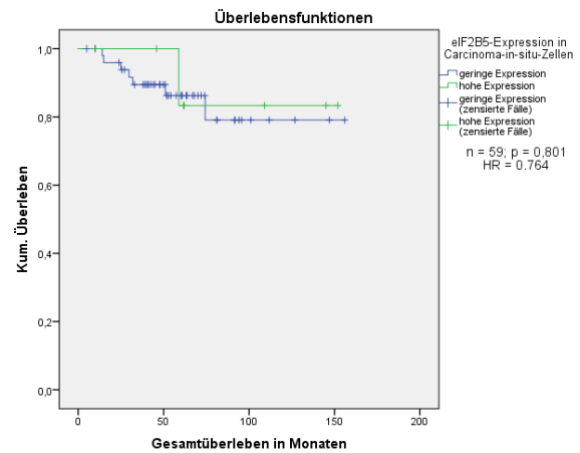
Bei Mammakarzinom-Patientinnen, die zudem noch ein duktales Carcinoma in situ aufwiesen, lag die mittlere Gesamtüberlebenszeit bei 133,3 Monaten. Aufgeteilt nach Expressionsgrad lag die mittlere Gesamtüberlebenszeit bei niedriger Färbeexpression mit 132,8 ( $\pm 8,4$ ) Monaten, tiefer als sie bei hoher Färbeexpression (136,5 Monaten ( $\pm 14,2$ )) lag ( $p = 0,801$ ;  $HR = 0,764$ ). Betrachtete man für diese Gruppe anstelle des Gesamtüberlebens das krankheitsfreie Intervall, so ließ sich auch dort kein Unterschied hinsichtlich der immunhistochemischen eIF2B5-Expression erkennen. Das mittlere krankheitsfreie Intervall betrug unabhängig von der immunhistochemischen Expression 128,6 Monate. Bei niedriger Färbeintensität betrug es 127,025 ( $\pm 8,2$ ) Monate, während es bei hoher Färbeintensität 136,1 ( $\pm 14,7$ ) Monate betrug ( $p = 0,600$ ;  $HR = 0,849$ ). Diese Daten, vor allem die berechneten Hazard-Ratios, sind aufgrund Schätzung (in der Kohorte handelt es sich vor allem um zensierte Fälle), der geringen Fallzahl und dem geringem Beobachtungszeitraum mit Vorsicht zu interpretieren.

Die Kaplan-Meier-Kurven sind in Abbildung 3.2. dargestellt.

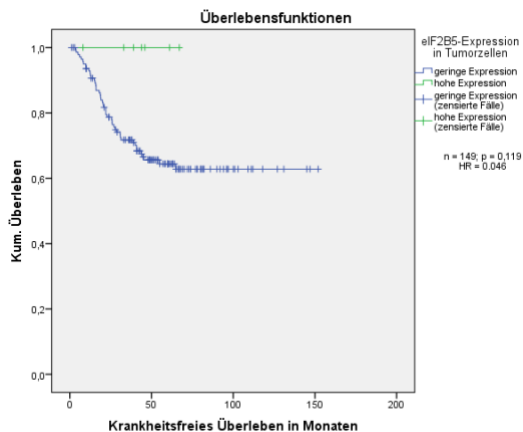
Analysierte man das Überleben in Abhängigkeit der immunhistochemischen Expression unterteilt nach klinisch-pathologischen Faktoren, so ließ sich auch dort kein signifikanter Unterschied zeigen, weshalb die Überlebenskurven aufgeteilt nach klinisch-pathologischen Faktoren zugunsten der Übersichtlichkeit hier nicht dargestellt werden.



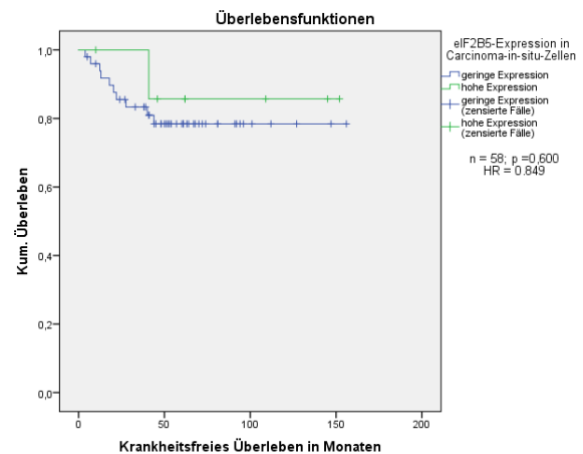
a. Gesamtüberleben in Abhängigkeit der immunhistochemischen eIF2B5-Expression bei Mammakarzinom



b. Gesamtüberleben in Abhängigkeit der immunhistochemischen eIF2B5-Expression im dukalen Carcinoma in situ



c. Krankheitsfreies Intervall in Abhängigkeit der immunhistochemischen eIF2B5-Expression beim Mammakarzinom



d. Krankheitsfreies Intervall in Abhängigkeit der immunhistochemischen eIF2B5-Expression im dukalen Carcinoma in situ

Abbildung 3.2: Überleben in Abhängigkeit der immunhistochemischen eIF2B5-Expression der Magdeburger Kohorte, dargestellt als Kaplan-Meier-Kurven

### 3.3.2. Korrelation der eIF2B-Genexpressionsdaten mit dem Überleben

#### Metabric-Kohorte [163]:

Auch für die mRNA-Daten wurde für die Subunits  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  und  $\epsilon$  des eIF2B-Komplexes basierend auf der Kaplan-Meier-Methode Überlebenskurven berechnet. Da sich hierbei teilweise signifikante Unterschiede im Überleben in Abhängigkeit von der mRNA-Expression der jeweiligen Subunit zeigten, wurde für das Gesamtüberleben zusätzlich eine Unterteilung anhand klinisch-pathologischer Faktoren vorgenommen.

#### **eIF2B1 / eIF2Ba:**

Betrachtet man das Gesamtüberleben in Abhängigkeit von der eIF2B1-Expression in Mammakarzinomen auf mRNA-Ebene [163], so zeigt sich bei einem Cut-Off am Median ( $p = 0,261$ ,  $HR = 1,094$ ) kein signifikanter Unterschied. Während bei einer hohen mRNA-Expression das mediane Gesamtüberleben bei 282,6 Monaten lag, so lag es bei einer niedrigen mRNA-Expression bei 300,7 ( $\pm 17,6$ ) Monaten.

Ein trendartigen mittleren Überlebensvorteil von 20 Monaten ergab sich im TNM-Stadium T=1, wenn eIF2B1 niedrig exprimiert war ( $p = 0,033$ ;  $HR = 1,348$ ).

Ist der HER2-neu-Status positiv, so zeigte sich auch ein trendartiger Unterschied im Überleben in Abhängigkeit von der eIF2B1-Expression mit einem  $p$  von 0,019. Das Hazard-Ratio beträgt hierbei 1,545. Das Risiko für HER2-positive Mammakarzinome ist also anderthalb-fach erhöht, wenn eIF2B1 hoch exprimiert ist und geht mit einer schlechteren Prognose einher.

Während bei HER2-neu-positiven Mamma-Karzinomen und niedriger mRNA-Expression das mittlere Überleben bei 191,2 ( $\pm 12,2$ ) Monaten lag, so betrug es bei hoher mRNA-Expression 126,8 ( $\pm 11,3$ ) Monaten. Das bedeutet, dass die Prognose bei HER2-neu-positiven Mammakarzinomen um 5,4 Jahre schlechter ist, wenn eIF2B1 auf mRNA-Niveau höher exprimiert wird. Bei Ansicht des medianen Überlebens wird dieser Unterschied noch deutlicher bemerkbar, da das mediane Überleben bei niedriger Expression 196,9 Monate betrug und bei hoher Expression 90,8 Monate, was einer schlechteren Prognose bei hoher Expression von 8,8 Jahren entspricht. Bei HER2-neu-negativen Mamma-Karzinomen ließ sich kein signifikanter Unterschied zwischen hoher und niedriger Expression zeigen. Hinsichtlich der gewählten Therapie gab es auch Unterschiede in der Überlebenszeitanalyse, welche jedoch nicht signifikant waren. Die Überlebensdaten sind in Tabelle 6.3.3 und einige Überlebenskurven in den Abbildungen 3.3. und 6.3.2. dargestellt.

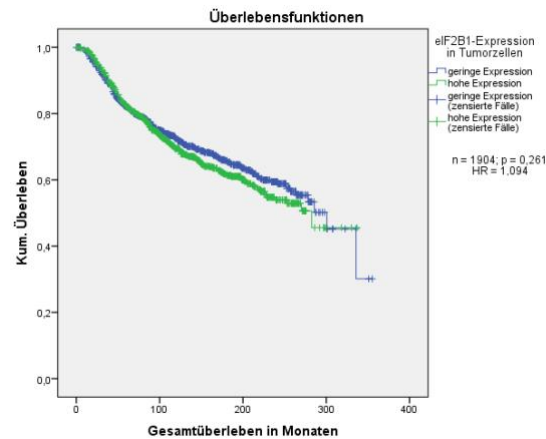


Abbildung 3.3.: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B1 basierend auf der Metabric-Kohorte [163] beim Mammakarzinom

### eIF2B2 / eIF2B $\beta$ :

Für die Untereinheit  $\beta$  des eIF2B-Komplexes wählte ich mit einem  $p = 0,021$  ( $HR = 1,247$ ) die 1. Quartile als Cut-Off-Wert. Hierbei zeigte sich ein mittleres Gesamtüberleben von  $246,9 (\pm 7,9)$  Monaten bei einer eIF2B2-mRNA-Expression unterhalb des Cutoffs bzw. von  $222,9 (\pm 4,3)$  Monaten bei einer höheren mRNA-Expression. Auch hier ist der Unterschied bei Betrachtung des medianen Überlebens mit 300,7 zu 270,1 Monaten größer. Insgesamt ließ sich demnach ein trendartiger Überlebensvorteil nachweisen.

Bei T2-Mammakarzinomen ließ sich ein trendartiger mittlerer Überlebensvorteil nachweisen, wenn eIF2B2 niedrig exprimiert war ( $p = 0,019$ ;  $HR = 1,355$ ; 194 Monate mittleres Gesamtüberleben bzw. 211 Monate medianes Gesamtüberleben bei hoher Expression vs. 229 Monate mittleres Gesamtüberleben bzw. 286 Monate medianes Gesamtüberleben bei niedriger Expression).

Betrachtete man nur Östrogenrezeptor-positive Mammakarzinome, so fand sich hier ein trendartiger Unterschied ( $p = 0,013$ ), je nach Expressionsgrad von eIF2B2. Das mediane Gesamtüberleben lag bei niedriger Expression bei 300,7 Monaten, während es bei höherer Expression bei  $270,1 (\pm 9,46)$  Monaten lag. Somit ist die Prognose bei Östrogenrezeptor-positivem Mammakarzinomen um ca. 30 Monate schlechter, wenn eIF2B2 hochgradig exprimiert wird ( $HR = 1,339$ ).

Bei Betrachtung des Progesteronrezeptor-Status fiel auf, dass die Überlebenskurve für Progesteronrezeptor-negative Mammakarzinome mit einer niedrigen eIF2B2-Expression trendartig korreliert ( $p = 0,017$ ;  $HR = 1,341$ ), wobei die Kreuztabellen (vgl. Tabelle 3.4.) einen signifikanten Zusammenhang zwischen Progesteronrezeptor-positiven Mammakarzinomen und hoher eIF2B2-Expression anzeigten. Das mittlere Gesamtüberleben betrug bei Progesteronrezeptor-negativen Mammakarzinomen  $220,3 (\pm 8,8)$  Monate bei niedriger mRNA-Expression und zeigte damit mit einem Überlebensvorteil von 20 Monaten gegenüber Progesteronrezeptor-negative Mammakarzinomen mit hoher Expression ( $200,8 \pm 6,7$  Monate).

Ebenso war die Prognose bei HER2-neu-negativem Mammakarzinom signifikant schlechter ( $p = 0,005$ ;  $HR = 1,351$ ), wenn eIF2B2 auf mRNA hochgradig exprimiert wurde (mediane Überlebenszeit: 300,7 vs. 270,1 Monate). Das Risiko, früher zu versterben, ist beim HER2-neu-negativem Mammakarzinom 1,351-fach erhöht, wenn eIF2B2 hoch exprimiert ist.

Zudem gab es einen trendartigen Unterschied im Überleben bei hoher mRNA-Expression, wenn das Mammakarzinom nicht triple-negativ war ( $p = 0,041$ ). Dieser Zusammenhang zeigte sich schon in den Kreuztabellen (vgl. Tabelle 3.4.). Bei niedriger mRNA-Expression betrug das mediane Gesamtüberleben 300,7 Monate, während es hingegen bei hoher mRNA-Expression 270,1 ( $\pm 11,46$ ) Monate betrug. Auch hier ist die Prognose bei hoher Expression schlechter ( $HR = 1,245$ ).

Weiterhin fand sich ein Unterschied in der Prognose je nach gewählter Therapie und eIF2B2-Expression. Bei nicht erhaltener Chemotherapie zeigte sich ein trendartiger Überlebensvorteil in Abhängigkeit von der eIF2B2-Expression ( $p = 0,027$ ;  $HR = 1,127$ ). Die Kaplan-Meier-Kurve zeigte einen Überlebensvorteil für Mammakarzinome mit einer niedrigen eIF2B2-Expression mit einer Hazard-Ratio von 1,127 an.

Eine durchgeführte Hormontherapie korrelierte trendartig mit einem Überlebensvorteil bei niedriger mRNA-Expression von eIF2B2 ( $p = 0,028$ ;  $HR = 1,149$ ). Bei niedriger Expression betrug das mittlere Gesamtüberleben 236,6 ( $\pm 12,2$ ) und das mediane Gesamtüberleben 285,7 ( $\pm 28,7$ ) Monate, während bei hoher Expression das mittlere Gesamtüberleben 208,5 ( $\pm 5,3$ ) und das mediane Gesamtüberleben 232,7 ( $\pm 11,9$ ) Monate betrug. Somit ergibt sich ein Überlebensvorteil bei niedriger eIF2B2-Expression. Die Überlebensdaten und Kaplan-Meier-Kurven für die eIF2B2-Untereinheit sind in der Tabelle 6.3.4 sowie den Abbildungen 3.4. und 6.3.3. abgebildet.

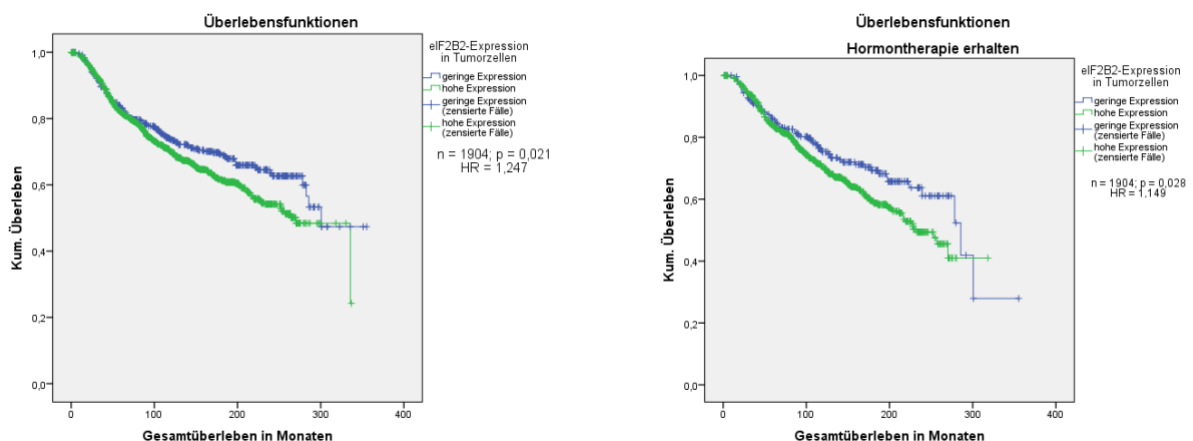


Abbildung 3.4: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B2 basierend auf der Metabric-Kohorte [163] beim Mammakarzinom und bei erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom

**eIF2B4 / eIF2Bδ:**

Auch für die 4. Subunit des eIF2B-Komplexes entsprach der Cut-off-Wert dem 1. Quartil. Hier zeigte sich kein signifikanter Unterschied im mittleren Gesamtüberleben. Bei einem  $p$  von 0,150 betrug das mittlere Gesamtüberleben bei niedriger eIF2B4-Expression 237,7 ( $\pm 7,2$ ) Monate und bei hoher eIF2B4-Expression 227,8 ( $\pm 5,3$ ) Monate (HR = 1,149).

Einen signifikanten Unterschied zugunsten niedriger mRNA-Expression gab es allerdings, wenn man nur die Östrogenrezeptor-negativen Mammakarzinome betrachtete ( $p = 0,007$ ; HR = 1,63). Innerhalb dieser Subgruppe betrug das mittlere Gesamtüberleben bei niedriger mRNA-Expression der Subunit 205,6 ( $\pm 11,2$ ) Monate, während es bei hoher mRNA-Expression 182,5 ( $\pm 8,3$ ) Monate betrug. Somit ist bei Östrogenrezeptor-negativen Mammakarzinomen die Prognose bei hoher eIF2B4-mRNA-Expression um ca. zwei Jahre schlechter und das Risiko, früher zu versterben, ist um den Faktor 1,63 erhöht.

Einen gleichen signifikanten Unterschied ergab sich auch bei Betrachtung der Progesteronrezeptor-negativen Mammakarzinome ( $p = 0,005$ ; HR = 1,447), wobei in dieser Subgruppe die Prognose um lediglich 9 Monate schlechter war (207,1 vs. 198,7 Monate).

Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass triple-negative Mammakarzinome eine trendartig schlechtere Prognose haben, wenn die eIF2B4-Expression auf mRNA-Niveau über dem Cut-off-Wert liegt ( $p = 0,048$ ; HR = 1,526). Die mittlere Überlebenszeit bei niedriger Expression betrug 206,6 ( $\pm 11,8$ ) Monate, während sie bei hoher Expression bei 187,0 ( $\pm 9,9$ ) Monate lag.

Unterscheidet man anhand der zugeführten Therapie, so zeigte sich in der Überlebensgrafik, dass die Radiotherapie bei niedriger mRNA-Expression besser anschlug ( $p = 0,039$ ; HR = 1,292). Das mittlere Gesamtüberleben suggeriert allerdings ein Überlebensvorteil bei hoher eIF2B4-Expression, welches sich nicht im medianen Überleben verifizieren lässt, da wegen der geringeren Sterbewahrscheinlichkeit bei niedriger Expression kein Median berechnet werden konnte. Die Überlebensdaten und Kaplan-Meier-Kurven sind in der Tabelle 6.3.5 sowie in den Abbildungen 3.5. und 6.3.4. abgebildet.

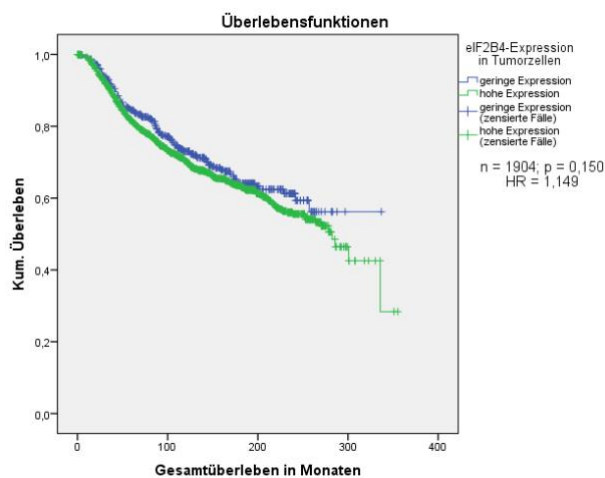


Abbildung 3.5.: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B4 basierend auf der Metabric-Kohorte [163] beim Mammakarzinom



**eIF2B5 / eIF2Bε:**

Der gewählte Schwellenwert bezüglich niedriger und hoher mRNA-Expression entsprach auch bei der letzten Subunit, der ε-Untereinheit, dem 1. Quartil (log rank  $p = 0,004$ ). Bei niedriger Expression betrug das mediane Gesamtüberleben ca. 8 Monate mehr als bei hoher Expression (285,7 ( $\pm 13,0$ ) vs. 278,4 ( $\pm 17,5$ ) Monate; HR = 1,334).

Gleiche Tendenz zeigte sich bei Betrachtung von T2-Mammakarzinomen. Mit einem  $p = 0,020$  und einer Hazard Ratio HR = 1,362 besteht ein trendartiger Überlebensvorteil für eIF2B5-niedrig exprimierte T2-Mammakarzinome. Dies spiegelt sich auch in der Betrachtung des medianen Gesamtüberlebens wider (285,7 vs. 216,9 Monate).

Ein trendartiger Überlebensvorteil zeigte sich auch bei niedriger mRNA-Expression für nodal-negative Mammakarzinome ( $p = 0,032$ ; HR = 1,434). Das mediane Gesamtüberleben konnte für nodal-negative Mammakarzinome bei niedriger Expression nicht berechnet werden, da das kumulative Überleben noch nicht unter 50% sank.

Ebenso ließ sich ein Überlebensvorteil bei nodal-positiven Mammakarzinomen bei niedriger mRNA-Expression verzeichnen ( $p = 0,034$ ; HR = 1,300; medianes Gesamtüberleben bei niedriger Expression 270,1 vs. 178,7 Monate bei hoher Expression).

Sowohl bei Östrogenrezeptor-positiven ( $p = 1,4 \cdot 10^{-5}$ ; HR = 1,685) als auch bei Progesteronrezeptor-positiven ( $p = 0,001$ , HR = 1,698) Mammakarzinomen zeigten sich signifikante Unterschiede in der Überlebensanalyse in Abhängigkeit der mRNA-Expression der ε-Untereinheit.

Mit einer Hazard Ratio von 1,685 für Östrogenrezeptor-positive und einer Hazard Ratio von 1,698 für Progesteronrezeptor-positive Mammakarzinome ist das Risiko, früher zu versterben bei hoher mRNA-Expression erhöht. Diese Signifikanzunterschiede zeigten sich nicht bei Betrachtung des medianen und mittleren Gesamtüberlebens.

Dem entgegen gab es signifikante Unterschiede in der Überlebenszeitanalyse, wenn der HER2-neu-Status negativ war ( $p = 0,004$ ; HR = 1,374). Das mediane Gesamtüberleben war bei niedriger eIF2B5-Expression besser (285,7  $\pm 11,1$  vs. 282,6  $\pm 13,5$  Monate) und entspricht auch der Überlebenskurve. Eine hohe Expression geht somit mit einem 1,374-fach erhöhtem Risiko einher, früher zu versterben.

Auch für nicht-triple-negative Karzinome zeigten sich in der Kaplan-Meier Kurve und im medianen Gesamtüberleben signifikante Unterschiede (medianes Gesamtüberleben von 285,7 Monaten bei niedriger Expression vs. 278,4 Monate bei hoher Expression). Der p-Wert zeigte einen signifikanten Unterschied an ( $p = 1,4 \cdot 10^{-5}$ ; HR = 1,539) und das Hazard-Ratio erbrachte den Nachweis, dass eine hohe eIF2B5-Expression mit einem 1,539-fach erhöhtem Risiko verbunden ist, früher zu versterben. Betrachtet man das mediane Überleben, so besteht ein Überlebensvorteil von 7,3 Monaten bei niedriger Expression.

Wie bei den vorherigen Untereinheiten auch, so ergaben sich auch Unterschiede im Überleben je nach zugeführter Therapie. Erhielten die Patientinnen keine Chemotherapie, so war die Prognose bei niedriger mRNA-Expression besser ( $p = 0,001$ ;  $HR = 1,528$ ).

Erhielten die Patientinnen eine Radiotherapie, so bestand ein trendartiger Überlebensvorteil bei niedriger mRNA-Expression ( $p = 0,015$ ;  $HR = 1,355$ ). Das mediane Gesamtüberleben war bei niedriger mRNA-Expression um 7,3 Monate höher ( $p = 0,015$ ; medianes Gesamtüberleben bei geringer Expression: 285,7 ( $\pm 11,2$ ) vs. medianes Gesamtüberleben bei hoher Expression: 278,4 ( $\pm 25,2$ ) Monate).

Bei erhaltener Hormontherapie war hierbei mit einem  $p$  von  $1,4 \cdot 10^{-5}$  das Überleben bei niedriger mRNA-Expression besser als bei hoher mRNA-Expression ( $p = 1,4 \cdot 10^{-5}$ ;  $HR = 1,777$ ). Eine hohe mRNA-Expression geht hier mit einem 1,777-fach erhöhtem Risiko einher, früher zu versterben. Auch das mediane Gesamtüberleben zeigte einen Überlebensvorteil für eIF2B5-niedrig exprimierte Mammakarzinome an (mittleres Gesamtüberleben bei niedriger Expression 285,7 Monate vs.  $226,2 \pm 14,0$  Monate bei hoher mRNA-Expression). Die Überlebensdaten aufgeschlüsselt nach klinisch-pathologischen Faktoren in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B5 sind der Tabelle 6.3.6 und den Abbildungen 3.6. und 6.3.5. dargestellt.

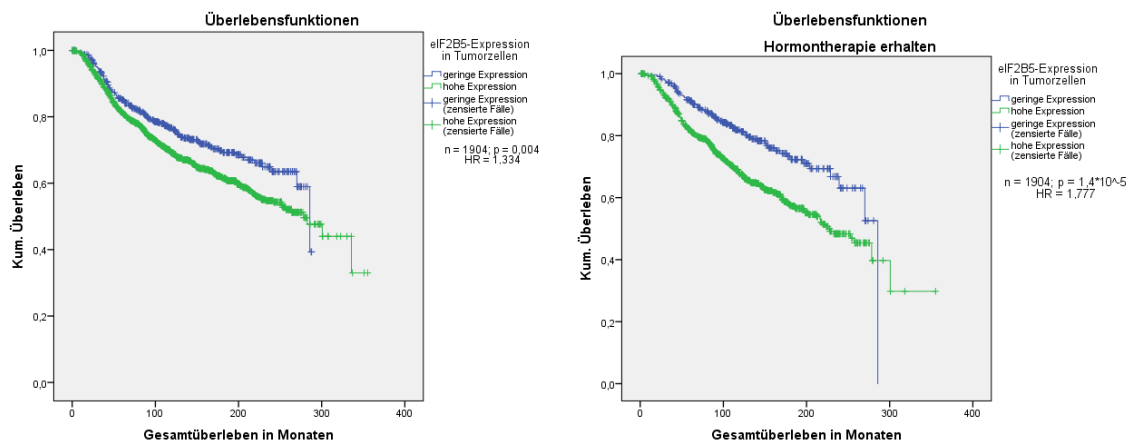


Abbildung 3.6.: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B5 basierend auf der Metabric-Kohorte [163] beim Mammakarzinom und bei erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom

KM-Plotter [166]:

Um die bioinformatischen Überlebenszeitdaten von Metabric [163] für die Untereinheiten von eIF2 auf mRNA-Ebene verifizieren zu können, nutzten wir mithilfe des KM-Plotters weitere Datenbanken [166]. Mithilfe dieses Online-Survival-Tools wurden die Datenbanken von EGA, TCGA und GEO nach der mRNA von eIF2B untersucht, ein Auto-Cut-Off-Wert festgelegt und basierend darauf Kaplan-Meier-Kurven erstellt. Für das krankheitsfreie Intervall konnten 4929 Daten selektiert werden, während für das Gesamtüberleben 1879 Daten selektiert wurden.

Zugunsten der Übersicht wurden für jede Untereinheit die Kaplan-Meier-Kurven für das Gesamtüberleben und das rezidiv-freie Überleben dargestellt. Für die Subanalysen wurden jeweils nur die signifikanten und trendartigen Überlebenskurven abgebildet.

**eIF2B1 / eIF2B $\alpha$ :**

Für die alpha-Untereinheit eIF2B1 lag der p-Wert für das Gesamtüberleben bei  $p = 0,102$  während er für das krankheitsfreie Überleben bei  $p = 0,240$  lag. Bei niedriger eIF2B1-Expression lag die mediane Gesamtüberlebenszeit bei 81 Monaten, während sie bei hoher eIF2B1-Expression bei 106,8 Monaten lag. Auf das krankheitsfreie Überleben bezogen zeigte sich bei hoher eIF2B1-Expression eine niedrigere mediane Gesamtüberlebenszeit (46,8 Monate vs. 51 Monate). Hierbei ließ sich auch bei Betrachtung der Kaplan-Meier-Kurven somit kein signifikantes Ergebnis darstellen.

Bei der Unterteilung in Subgruppen zeigte sich, dass ein Überlebensvorteil sowohl im Gesamtüberleben als auch im medianen krankheitsfreien Überleben bei Östrogenrezeptor-negativen Mammakarzinomen besteht, wenn eIF2B1 hoch exprimiert ist (Gesamtüberleben:  $p = 0,009$ ; HR = 0,66; 68,4 Monate bei hoher Expression vs. 40,7 Monate bei niedriger Expression; Krankheitsfreies Überleben:  $p = 0,006$ ; HR = 0,77; medianes krankheitsfreies Überleben 27 Monate bei hoher Expression vs. medianes krankheitsfreies Überleben von 18 Monaten bei niedriger Expression).

Für das mediane krankheitsfreie Überleben zeigte sich zudem ein signifikanter Überlebensvorteil beim Östrogenrezeptor-positiven Mammakarzinom, wenn eIF2B1 niedrig exprimiert ist ( $p = 0,005$ , HR = 1,18; 69,7 Monate bei niedriger mRNA-Expression vs. 54 Monate bei hoher mRNA-Expression).

Beim nodal-negativem Mammakarzinom ließ sich ein signifikanter Überlebensvorteil im Gesamtüberleben bei niedriger eIF2B1-Expression nachweisen ( $p = 0,006$ ; HR = 1,45; medianes Gesamtüberleben 173,7 Monate bei niedriger eIF2B1-mRNA-Expression vs. 89,0 Monate bei hoher eIF2B1-mRNA-Expression).

Weiterhin war bei nodal-positivem Mammakarzinomen ein Überlebensvorteil bei hoher eIF2B1-mRNA-Expression zu verzeichnen. Bezogen auf das Gesamtüberleben ließ sich ein trendartiger Unterschied mit einem Überlebensvorteil von 20 Monaten zugunsten hoher mRNA-Expression nachweisen ( $p = 0,040$ ; HR = 0,70; medianes Gesamtüberleben bei niedriger eIF2B1-Expression = 35,3 Monate vs. medianes Gesamtüberleben bei hoher eIF2B1-Expression = 55,5 Monate), während der Überlebensvorteil bei hoher mRNA-Expression, bezogen auf das mediane krankheitsfreie Überleben

sogar signifikant war ( $p = 0,004$ ;  $HR = 0,78$ ; medianes krankheitsfreies Überleben bei niedriger Expression 32,0 Monate vs. 45 Monate bei hoher Expression). Ebenso zeigte sich ein Überlebensvorteil – im Gesamt- und im krankheitsfreien Überleben – bei niedriger eIF2B1-Expression, wenn die Patientinnen eine Hormontherapie bekamen ( $p = 0,006$ ;  $HR = 1,98$  für das Gesamtüberleben bzw.  $p = 0,002$ ;  $HR = 1,48$  für das mediane krankheitsfreie Überleben). Patientinnen, die eine Chemotherapie erhielten, hatten einen trendartigen Vorteil im krankheitsfreien Überleben, wenn eIF2B1 niedrig exprimiert war ( $p = 0,045$ ;  $HR = 1,26$ ; medianes krankheitsfreies Überleben bei niedriger eIF2B1-mRNA-Expression: 58 Monate vs. medianes krankheitsfreies Überleben bei hoher eIF2B1-mRNA-Expression: 39,84 Monate).

Die Übersicht der Überlebensdaten sowie die signifikanten Überlebenskurven als Kaplan-Meier-Kurven sind in Tabelle 6.3.7 und in den Abbildung 3.7. sowie 6.3.6. und 6.3.7. dargestellt.

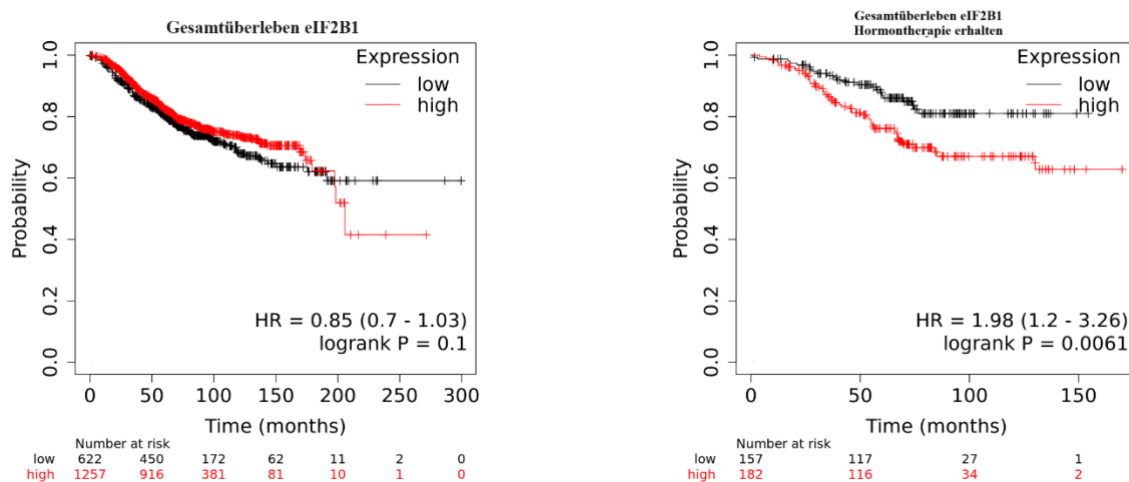


Abbildung 3.7.: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B1 basierend auf dem KM-Plotter [166, 167] beim Mammakarzinom und bei erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom

### eIF2B2 / eIF2B $\beta$ :

Sowohl für das mediane krankheitsfreie Überleben und das Gesamtüberleben ließ sich kein signifikanter Überlebensvorteil in Abhängigkeit von der eIF2B2-Untereinheit nachweisen.

Dennoch zeigte sich wie auch bei der alpha-Subunit ein signifikanter Überlebensvorteil bei Betrachtung des rezidiv-freien Überlebens für Östrogenrezeptor-positive Mammakarzinome, wenn eIF2B2 niedrig exprimiert war ( $p = 0,004$ ;  $HR = 1,20$ ; medianes krankheitsfreies Überleben bei niedriger Expression = 216,7 Monate vs. medianes krankheitsfreies Überleben bei hoher Expression = 184 Monate). Ebenso – ließ sich ein signifikanter Überlebensvorteil im Gesamtüberleben und ein trendartiger Überlebensvorteil beim krankheitsfreien Überleben beim Östrogenrezeptor-negativem Mammakarzinom feststellen ( $p = 0,0095$ ;  $HR = 1,52$ ). Auch hier war bei hoher eIF2B2-Expression das mediane Gesamtüberleben 26

Monate geringer (67,4 vs. 41,4 Monate) und das mediane krankheitsfreie Überleben ( $p = 0,018$ ; HR = 1,26) um 4,6 Monate geringer (23,6 vs. 19 Monate).

Waren die Mammakarzinome HER2-neu negativ, so ließ sich ein signifikanter Vorteil im krankheitsfreien Überleben ( $p = 0,004$ ; HR = 1,20; medianes krankheitsfreies Überleben bei niedriger Expression von 228,9 vs. medianes krankheitsfreies Überleben bei hoher Expression von 184 Monate) und ein trendartiger Überlebensvorteil im Gesamtüberleben ( $p = 0,034$ ; HR = 1,29; 123,6 vs. 80,65 Monate) bei niedriger eIF2B2-mRNA-Expression nachweisen.

Trendartige Unterschiede zugunsten einer niedrigen eIF2B2-Expression zeigten sich zudem im Gesamtüberleben bei nodal-positivem Mammakarzinom ( $p = 0,046$ ; HR = 1,4) und bei erhaltener Chemotherapie ( $p = 0,013$ ; HR = 1,71).

Ebenfalls trendartige Überlebensvorteile bei niedriger eIF2B2-Expression zeigten sich im krankheitsfreien Überleben beim nodal-negativem ( $p = 0,018$ ; HR = 1,25) Mammakarzinom und bei nicht erhaltener Chemotherapie ( $p = 0,03$ ; HR = 1,23).

Sowohl bezogen auf das Gesamtüberleben ( $p = 0,0003$ ; HR = 2,34) als auch auf das krankheitsfreie Überleben ( $p = 0,001$ ; HR = 1,47) ließen sich signifikante Überlebensvorteile bei erhaltener Hormontherapie feststellen, wenn eIF2B2 schwach exprimiert war.

Die Überlebensdaten aufgeschlüsselt nach den verfügbaren klinisch-pathologischen Faktoren in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B2 sind in der Tabelle 6.3.8 und in den Abbildungen 3.8. sowie 6.3.8. und 6.3.9. dargestellt.

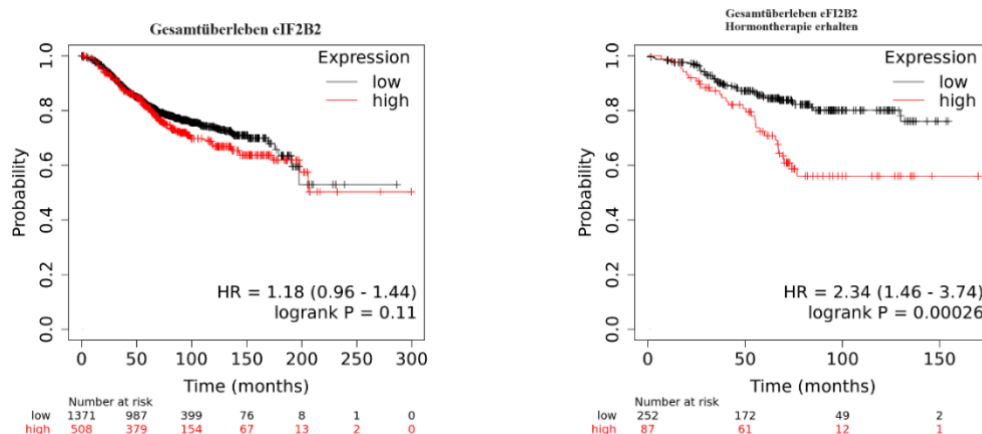


Abbildung 3.8.: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B2 basierend auf dem KM-Plotter [166, 167] beim Mammakarzinom und bei erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom

**eIF2B3 / eIF2By:**

Für die Untereinheit eIF2B3 konnte sowohl für das mediane Gesamtüberleben als auch für das mediane krankheitsfreie Überleben kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. Jedoch konnte ein trendartiger Überlebensvorteil bei niedriger eIF2B3-Expression im krankheitsfreien Überleben nachgewiesen werden ( $p = 0,018$ ; HR = 1,14). Gleicher Trend zeigte sich im krankheitsfreien Überleben, bei selektiver Betrachtung Östrogenrezeptor-positiver Mammakarzinome ( $p = 0,031$ ; HR = 1,17) zugunsten einer niedrigen mRNA-Expression.

Einen signifikanten Überlebensvorteil im krankheitsfreien Überleben zeigte sich bei HER2-neu negativen Mammakarzinomen, wenn eIF2B3 niedrig exprimiert war ( $p = 0,008$ ; HR = 1,18).

Obwohl eine hohe eIF2B3-Expression mit einem trendartig (bei Betrachtung des krankheitsfreien Überlebens aller Mammakarzinome und Östrogen-rezeptor-positiver Mammakarzinome) bzw. signifikant (bei Betrachtung HER2-neu-negativer Mammakarzinome) höherem Hazard Ratio assoziiert ist, ergeben sich widersprüchliche Angaben zum medianen Überleben. Dies ist vermutlich auf die Verteilung der zensierten Fälle zurückzuführen, da lediglich zensierte Fälle unter die 50%-Grenze der Überlebenswahrscheinlichkeit fallen.

Sowohl bezogen auf das mediane Gesamtüberleben ( $p = 0,030$ ), als auch auf das mediane krankheitsfreie Überleben ( $p = 0,034$ ) ergaben sich beim nodal-negativem Mammakarzinom trendartige Überlebensvorteile, wenn eIF2B3 niedrig exprimiert war. Beim nodal-positivem Mammakarzinom ließ sich ein signifikanter Überlebensvorteil von 41,8 Monaten im krankheitsfreien Überleben zeigen, wenn eIF2B3 niedrig exprimiert war ( $p = 0,001$ ; HR = 1,33; medianes krankheitsfreies Überleben von 171,4 Monate bei niedriger eIF2B3-Expression vs. 129,6 Monate bei hoher eIF2B3-Expression).

Wie auch bei den vorherigen Untereinheiten zeigte sich ein signifikanter Überlebensvorteil im Gesamtüberleben ( $p = 0,007$ ; HR = 2,23) als auch im krankheitsfreien Überleben ( $p = 0,010$ ; HR = 1,37), wenn eIF2B3 niedrig exprimiert war und die Patientinnen eine Hormontherapie erhielten.

Ebenso zeigte sich ein trendartiger Unterschied zugunsten niedriger eIF2B3-Expression bei nicht erhaltener Hormontherapie im medianen krankheitsfreien Überleben ( $p = 0,022$ ; HR = 1,22).

Die Überlebensdaten und Kaplan-Meier-Kurven für die eIF2B3-Untereinheit sind in der Tabelle 6.3.9 sowie in den Abbildungen 3.9. sowie 6.3.10. und 6.3.11. abgebildet.

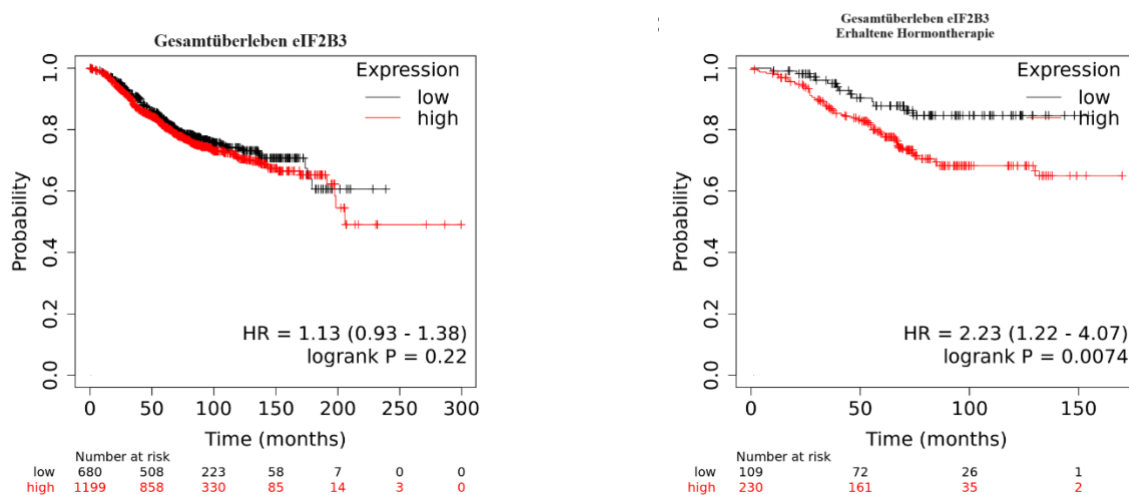


Abbildung 3.9: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B3 basierend auf dem KM-Plotter [166, 167] beim Mammakarzinom und bei erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom

#### eIF2B4 / eIF2Bδ:

Einen signifikanten Unterschied im krankheitsfreien Intervall zeigte auch die eIF2B4-Untereinheit. Mit einem p-Wert von 0,0002 ließ sich ein Überlebensvorteil bei hoher mRNA-Expression nachweisen (HR = 0,82). Das mediane krankheitsfreie Intervall betrug bei hoher Expression 60 Monate, während es bei niedriger mRNA-Expression 42,0 Monate betrug. Umgekehrt verhielt es sich beim Gesamtüberleben, jedoch konnte hier kein signifikanter Unterschied aufgezeigt werden.

Betrachtet man nur Östrogenrezeptor-positive Mammakarzinome, so lässt sich bezogen auf das Gesamtüberleben ein signifikanter Überlebensvorteil bei niedriger eIF2B4-mRNA-Expression feststellen ( $p = 0,010$ ; HR = 1,38; medianes Gesamtüberleben von 135,8 Monate bei niedriger Expression vs. 82 Monate bei hoher Expression), während sich ein signifikanter Überlebensvorteil (im Median von 20 Monaten) im krankheitsfreien Intervall bei hoher eIF2B4-Expression vermerken ließ ( $p = 0,005$ ; HR = 0,84; medianes krankheitsfreies Überleben von 52 Monaten bei niedriger Expression vs. 72 Monate bei hoher Expression).

Weiterhin signifikant war das mediane krankheitsfreie Überleben bei HER2-neu-negativen Mammakarzinomen, die eine bessere Prognose bei Hochexpression von eIF2B4 aufwiesen ( $p = 4,3 \times 10^{-6}$ , HR = 0,77; medianes krankheitsfreies Überleben bei niedriger Expression = 44 Monate vs. 72,1 Monate bei hoher Expression).

Nodal-positive Mammakarzinome zeigten einen signifikanten Überlebensvorteil im Gesamtüberleben bei niedriger eIF2B4-mRNA-Expression ( $p = 0,005$ ; HR = 1,63; medianes Gesamtüberleben bei niedriger eIF2B4-Expression von 55,5 Monaten vs. medianes Gesamtüberleben bei hoher eIF2B4-Expression von 33,4 Monaten).

Wie auch bei den vorherigen eIF2B-Untereinheiten zeigte sich ein Gesamtüberlebensvorteil bei Patientinnen, die eine Hormontherapie erhalten haben und eIF2B4 niedrig exprimiert war ( $p = 0,001$ ;  $HR = 2,43$ ).

Patientinnen, die keine Hormontherapie bekommen haben, zeigten einen trendartigen Überlebensvorteil im krankheitsfreien Überleben, wenn eIF2B4 hoch exprimiert war ( $p = 0,011$ ;  $HR = 0,81$ ; medianes krankheitsfreies Überleben bei niedriger mRNA-Expression von 39,96 Monaten vs. medianes krankheitsfreies Überleben bei hoher mRNA-Expression von 57 Monaten).

Ein trendartig längeres Gesamtüberleben hatten sowohl HER2-neu-positive Mammakarzinome und Patientinnen, die eine Chemotherapie erhalten haben, wenn eIF2B4 niedrig exprimiert war.

Die Überlebensdaten, basierend auf dem KM-Plotter für die eIF2B4-Untereinheit, sind in Tabelle 6.3.10, die Überlebenskurven nach der Kaplan-Meier-Methode in den Abbildungen 3.10. sowie 6.3.12. und 6.3.13. dargestellt.

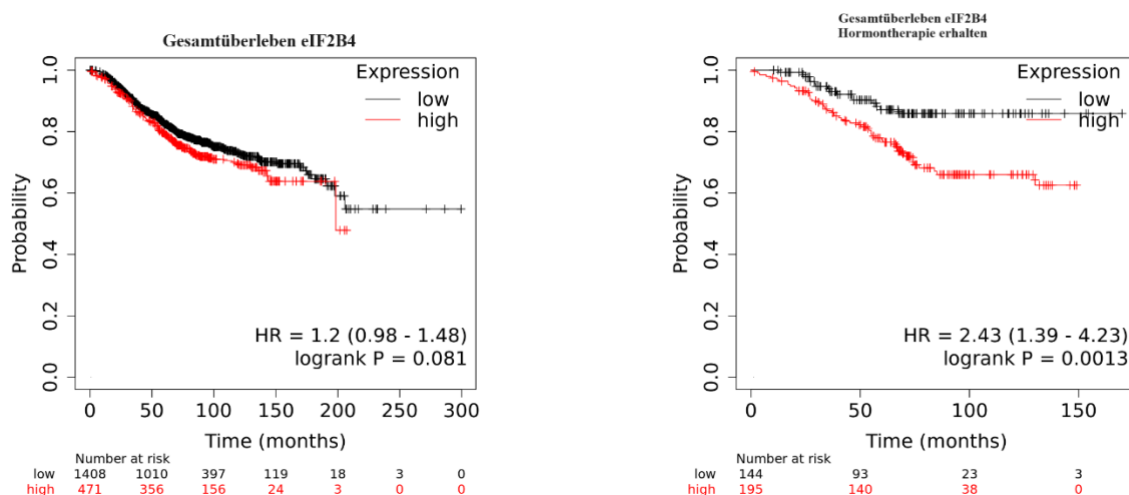


Abbildung 3.10: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B4 basierend auf dem KM-Plotter [166, 167] beim Mammakarzinom und bei erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom



**eIF2B5 / eIF2Bε:**

Nicht signifikant zeigte sich das Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von der eIF2B5-Untereinheit.

Der p-Wert lag hierbei bei 0,057 und die mediane Gesamtüberlebenszeit betrug bei niedriger eIF2B5-Expression 72,2 Monate, während die Gesamtüberlebenszeit bei hoher eIF2B5-Expression 33,2 Monate mehr betrug (105,44 Monate).

Der p-Wert lag für diese Population, bezogen auf das krankheitsfreie Überleben, bei  $p = 1 \times 10^{-7}$  und die Hazard Ratio betrug  $HR = 0,75$ .

Die mediane krankheitsfreie Überlebenszeit betrug bei niedriger Expression 191,21 Monate, während sie bei hoher Expression 216,66 Monate lag, somit lag bezogen auf das mediane krankheitsfreie Überleben ein signifikanter Überlebensvorteil bei hoher eIF2B5-mRNA-Expression vor.

Ebenso zeigte sich in der Subgruppenanalyse ein krankheitsfreier Überlebensvorteil bei hoher eIF2B5-Expression für Östrogenrezeptor-positive Mammakarzinome ( $p = 0,0002$ ;  $HR = 0,78$ ; medianes krankheitsfreies Überleben bei niedriger eIF2B5-mRNA-Expression = 191,2 Monate vs. medianes krankheitsfreies Überleben bei hoher eIF2B5-mRNA-Expression = 216,7 Monate) als auch für HER2-neu-negative Mammakarzinome ( $p = 4,3 \times 10^{-8}$ ;  $HR = 0,71$ ; medianes krankheitsfreies Überleben bei niedriger Expression = 191,2 Monate vs. 216,7 Monate bei hoher Expression). Bei letzter Subgruppe konnte auch ein trendartiger Überlebensvorteil bei hoher mRNA-Expression im Gesamtüberleben nachgewiesen werden ( $p = 0,018$ ;  $HR = 0,75$ ; medianes Gesamtüberleben bei niedriger Expression = 80,6 Monate vs. 121,2 Monate bei hoher Expression).

Für nodal-positive Mammakarzinome war ein trendartiger Überlebensvorteil im krankheitsfreien Überleben bei hoher mRNA-Expression nachweisbar ( $p = 0,042$ ;  $HR = 0,82$ ; medianes krankheitsfreies Überleben bei niedriger mRNA-Expression = 122,64 Monate vs. 171,43 Monate bei hoher mRNA-Expression), während für nodal-negative Mammakarzinome ein signifikanter Überlebensvorteil im krankheitsfreien Überleben für eIF2B5-niedrig-exprimierte Mammakarzinome nachweisbar war ( $p = 8,7 \times 10^{-5}$ ;  $HR = 1,38$ ; medianes krankheitsfreies Überleben bei niedriger mRNA-Expression von eIF2B5 = 216,7 Monate vs. 185,2 Monate bei hoher mRNA-Expression).

Für Patientinnen, die keine Chemotherapie bekamen, zeigte sich ein signifikanter Vorteil im krankheitsfreien Überleben bei niedriger eIF2B5-Expression ( $p = 0,002$ ;  $HR = 1,29$ ; medianes krankheitsfreies Überleben bei niedriger eIF2B5-Expression = 216,7 vs. 185,2 Monate bei hoher mRNA-Expression). Einen signifikanten Überlebensvorteil zugunsten niedriger mRNA-Expression zeigte sich für Patientinnen, die keine Hormontherapie bekamen ( $p = 0,001$ ;  $HR = 1,33$ ; medianes krankheitsfreies Überleben bei niedriger Expression = 216,7 Monate vs. 161,3 Monate bei hoher Expression). Trendartige Überlebensvorteile zugunsten niedriger mRNA-Expression ließen sich im Gesamtüberleben für Patientinnen nachweisen, die keine Chemotherapie erhielten ( $p = 0,039$ ;  $HR =$

1,46) und im krankheitsfreien Überleben für Patientinnen, die Chemotherapie erhielten ( $p = 0,027$ ; HR = 1,29).

Die Überlebensdaten aufgeschlüsselt nach den verfügbaren klinisch-pathologischen Faktoren in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B5 sind der Tabelle 6.3.11 und in den Abbildungen 3.11. sowie 6.3.14. und 6.3.15. dargestellt.

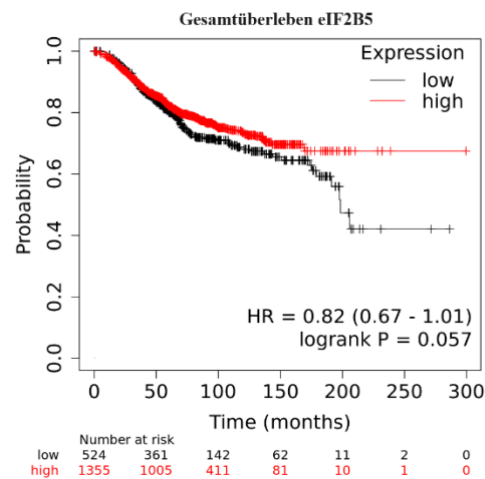


Abbildung 3.11: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B5 basierend auf dem KM-Plotter [166, 167] beim Mammakarzinom

Folgend sind die signifikanten Ergebnisse der Kreuztabellen und der Überlebensanalyse zusammengefasst. Nicht signifikante Ergebnisse, sowie die Überlebensanalyse der immunhistochemischen Kohorten wurden zu Gunsten der Übersichtlichkeit in den folgenden Tabellen außen vorgelassen. Für die Überlebensanalyse waren maßgeblich die Daten des KM-Plotters, sowie die Hazard Ratio. Grün beschriftet wurde das Ergebnis, wenn der Zusammenhang bzw. Überlebensvorteil bei hoher Expression zu verzeichnen war, blau markiert wurde das Ergebnis, wenn der Zusammenhang bzw. der Überlebensvorteil bei niedriger Expression nachzuweisen war.

Signifikanzübersicht	eIF2B1				eIF2B2			
	mRNA Metabrix*		KM-Plotter*		mRNA Metabrix*		KM-Plotter*	
	Kreuztabellen	Gesamtüberleben	Gesamtüberleben	Krankheitsfreies Überleben	Kreuztabellen	Gesamtüberleben	Gesamtüberleben	Krankheitsfreies Überleben
<b>Gesamtüberleben</b>		nicht signifikanter Überlebensvorteil in allen Kurven - niedrige Expression				trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression		
<b>Krankheitsfreies Überleben</b>								
<b>Östrogenrezeptor</b>	signifikanter Zusammenhang				signifikanter Zusammenhang			
positiv	häufiger hohe Expression			signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression	häufiger hohe Expression	trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression		signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression
negativ	häufiger negative Expression		signifikanter Überlebensvorteil - hohe Expression	signifikanter Überlebensvorteil - hohe Expression			signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression	trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression
<b>Progesteronrezeptor</b>					signifikanter Zusammenhang			
positiv					häufiger hohe Expression			
negativ						trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression		
<b>HER2-neu-Status</b>	signifikanter Zusammenhang							
negativ	häufiger hohe Expression					signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression	trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression	signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression
positiv	häufiger niedrige Expression	trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression						
<b>TNBC (Triple negative Breast Cancer)</b>					signifikanter Zusammenhang			

nicht triple negativ					häufiger hohe Expression	trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression		
triple negativ								
<b>T (Tumorausdehnung)</b>								
T1		trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression						
T2						trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression		
T3								
<b>N (Lymphknotenmetastasen)</b>					trendartiger Zusammenhang			
Nodal positiv			trendartiger Überlebensvorteil - hohe Expression	signifikanter Überlebensvorteil - hohe Expression	häufiger hohe Expression		trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression	
Nodal negativ			signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression					trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression
<b>Radiotherapie</b>								
ja								
nein								
<b>Chemotherapie</b>								
ja				trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression			trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression	
nein						trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression		trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression
<b>Hormontherapie</b>		signifikanter Zusammenhang			signifikanter Zusammenhang			
keine		häufiger niedrige Expression						
erhalten		häufiger hohe Expression	signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression	signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression	häufiger hohe Expression	trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression	signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression	signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression

\* Signifikanzniveau:  $p < 0,01$ \*\*Signifikanzniveau:  $p < 0,05$ 

Tabelle 3.4: Signifikanzübersicht von eIF2B1 und eIF2B2

Signifikanzübersicht	eIF2B3		eIF2B4			
	KM-Plotter*		mRNA Metabrie*		KM-Plotter*	
	Gesamtüberleben	Krankheitsfreies Überleben	Kreuztabellen	Gesamtüberleben	Gesamtüberleben	Krankheitsfreies Überleben
Gesamtüberleben				nicht signifikanter Überlebensvorteil in allen Kurven - niedrige Expression		
Krankheitsfreies Überleben		trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression				signifikanter Überlebensvorteil - hohe Expression
Östrogenrezeptor						
positiv		trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression			signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression	signifikanter Überlebensvorteil - hohe Expression
negativ				signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression		
Progesteronrezeptor			trendartiger Zusammenhang			
positiv			häufiger hohe Expression			
negativ				signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression		
HER2-neu-Status			trendartiger Zusammenhang			
negativ		trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression				signifikanter Überlebensvorteil - hohe Expression
positiv			häufiger hohe Expression		trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression	
TNBC (Triple negative Breast Cancer)			signifikanter Zusammenhang			
nicht triple negativ			häufiger hohe Expression			
triple negativ				trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression		
T (Tumorausdehnung)						
T1						

T2						
T3						
<b>N (Lymphknotenmetastasen)</b>						
Nodal positiv		signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression			signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression	
Nodal negativ	trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression	trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression				
<b>Radiotherapie</b>						
ja				trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression		
nein						
<b>Chemotherapie</b>						
ja					trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression	
nein						
<b>Hormontherapie</b>						
keine		trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression				trendartiger Überlebensvorteil - hohe Expression
erhalten	signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression	signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression			signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression	

\* Signifikanzniveau:  $p < 0,01$

\*\*Signifikanzniveau:  $p < 0,05$

Tabelle 3.5: Signifikanzübersicht von eIF2B3 und eIF2B4

Signifikanzübersicht	eIF2B5							
	mRNA Metabrie*		KM-Plotter*		IHC MD Tumorsubgruppe**	IHC MD DCIS**	IHC Graz Tumorsubgruppe**	IHC Graz DCIS**
	Kreuztabellen	Gesamtüberleben	Gesamtüberleben	Krankheitsfreies Überleben	Kreuztabellen / KM-Plotter	Kreuztabellen / KM-Plotter	Kreuztabellen / KM-Plotter	Kreuztabellen / KM-Plotter
Gesamtüberleben		signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression						
Krankheitsfreies Überleben				signifikanter Überlebensvorteil - hohe Expression				
Östrogenrezeptor	signifikanter Zusammenhang							
positiv	häufiger hohe Expression	signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression		signifikanter Überlebensvorteil - hohe Expression				
negativ								
Progesteronrezeptor								
positiv		signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression						
negativ								
HER2-neu-Status								
negativ		signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression	trendartiger Überlebensvorteil - hohe Expression	signifikanter Überlebensvorteil - hohe Expression				
positiv								
TNBC (Triple negative Breast Cancer)	signifikanter Zusammenhang							
nicht triple negativ	häufiger hohe Expression	signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression						
triple negativ								
T (Tumorausdehnung)						trendartiger Zusammenhang		
T < 2						häufiger niedrige Expression		
T > 2						häufiger hohe Expression		
1								

2 3 N (Lymphknotenmetastasen) Nodal positiv Nodal negativ <b>Radiotherapie</b> ja nein <b>Chemotherapie</b> ja nein <b>Hormontherapie</b> keine erhalten		trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression						
		trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression		trendartiger Überlebensvorteil - hohe Expression				
		trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression		signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression				
		trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression						
		trendartiger Zusammenhang						
				trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression				
		häufiger hohe Expression	signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression	trendartiger Überlebensvorteil - niedrige Expression	signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression			
				signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression				
		signifikanter Überlebensvorteil - niedrige Expression						

\* Signifikanzniveau:  $p < 0,01$

\*\*Signifikanzniveau:  $p < 0,05$

Tabelle 3.6: Signifikanzübersicht von eIF2B5



---

## 4. Diskussion

In dieser Diskussion wird auf die initialen Fragestellungen der hier dargestellten Thematik der Expression der Untereinheiten des eIF2B-Komplexes beim Mammakarzinom eingegangen. Fokus liegt auf dem Vergleich der mRNA-Expression und der immunhistochemisch bestimmten Expression von eIF2B-Untereinheiten im Mammakarzinom. Insbesondere wird auf die prognostische Relevanz dieser Daten eingegangen.

### 4.1. Patientenkollektive und klinisch pathologische Parameter

Diese Dissertation bearbeitet verschiedene Kohorten, die teilweise immunhistochemisch auf Proteinebene und teilweise auf Genexpressionsebene untersucht wurden.

Die beiden immunhistochemisch untersuchten Patientenkollektive aus den Kohorten Magdeburg und Graz wurden getrennt analysiert und im Nachhinein miteinander verglichen.

Für die Kohorte Magdeburg ergab sich ein mittleres Erkrankungsalter von 63,8 Jahren, während das mittlere Erkrankungsalter der Grazer Kohorte 56,2 Jahre betrug ( $p=0,002$ ). Bezugnehmend auf das Zentrum für Krebsregisterdaten lag 2018 das mittlere Erkrankungsalter in Deutschland (für Frauen) bei 64 Jahren [176]. Dies entspricht der Verteilung in der Allgemeinbevölkerung, womit unsere Kohorten repräsentative Kollektive darstellen. Dass die Grazer Kohorte ein niedrigeres mittleres Erkrankungsalter aufwies, kann in der niedrigen Fallzahl ( $n = 49$ ) begründet sein. Dementsprechend waren in der Magdeburger Kohorte ca. 80% der betroffenen Mammakarzinom-Patientinnen in der Postmenopause. Eine ähnliche Verteilung zeigte sich auch in der mRNA-basierten Kohorte von Metabric. Dies verwundert nicht, da das Alter und der Menopausenstatus unmittelbar voneinander abhängen und bei einem höheren Erkrankungsalter eine höhere Wahrscheinlichkeit vorliegt, dass die Patientin sich schon in der Menopause befunden hat oder sich gerade darin befindet.

Bezogen auf den Rezeptorstatus zeigte sich sowohl in der Magdeburger, der Grazer, als auch in der Metabric-mRNA-basierten Kohorte in ca. 70% der Östrogenrezeptor positiv und in 50% der Progesteronrezeptor als positiv. Auch dies entspricht dem Rezeptorstatus bei Mammakarzinomen in der Normalbevölkerung [177].

Ebenfalls entsprechend der Allgemeinbevölkerung lag in der Magdeburger Kohorte in 80% ein invasives Karzinom ohne speziellen Typ vor. 15% wiesen ein invasiv-lobuläres Karzinom auf. Zusammenfassend zeigte sich auch in der Verteilung der histologischen Subtypen ein repräsentatives Kollektiv [30].

## 4.2. Expression der eIF2B-Untereinheiten und klinisch pathologische Faktoren

Bei Betrachtung der immunhistochemischen Expression ist in erster Linie zu sagen, dass die Färbeargebnisse in den unterschiedlichen Kohorten (Magdeburg vs. Graz) unterschiedlich erscheinen. Zudem muss bei der Interpretation berücksichtigt werden, dass für die Kohorte Magdeburg die Anzahl der Patientinnen deutlich größer war als die der Kohorte Graz.

Betrachtet man die immunhistochemische Expression von eIF2B5 in der Magdeburger Kohorte, so zeigt sich keine signifikant erhöhte immunhistochemische Expression in den Tumoren. Auch bezogen auf die histologischen Subtypen ließ sich keine vermehrte Expression feststellen (vgl. Tabelle 3.1.)

Lediglich in der DCIS-Gruppe, was bedeutet, dass neben dem Primärtumor noch duktale Carcinoma-in-situ-Anteile im Präparat vorhanden waren, zeigte sich ein trendartiger Zusammenhang zwischen der immunhistochemischen eIF2B5-Expression und der Primärtumorausdehnung T. Ist die Primärtumorausdehnung  $T < 2$ , so zeigt sich häufiger eine niedrige eIF2B5-Expression. Gleichzeitig ist das Risiko, dass die Primärtumorausdehnung  $T > 2$  ist, höher, wenn eine höhere immunhistochemische Expression vorliegt.

Dieses Phänomen, dass DCIS als Tumor-Vorstufe eine hohe Expression von eIF2B5 hat, wenn der Primärtumor groß genug ist ( $T > 2$ ) ist, lässt sich schwer erklären. Eine mögliche Erklärung findet sich darin, dass eine hohe eIF2B5-Expression im DCIS das Wachstum von Tumoren fördert, so dass diese größer werden. Weiterhin ist auch denkbar, dass größere Tumoren mehr Zytokine ausscheiden, die eIF2B5 im DCIS hochregeln.

Weitere mögliche Erklärungsversuche finden sich im Tumorenvironment. Tumorenvironment beschreibt einen sich ständig stattfindenden Prozess zwischen der Tumorzelle und dem umgebenden Gewebe, bei dem Immunzellen, Zytokine, Stroma-Zellen, extrazelluläre Matrix, Blutgefäße, etc. involviert sind. Dies scheint gegenseitigen Einfluss aufeinander und auf das Überleben der Tumorzelle, deren lokalen Invasion und auf die Metastasenbildung zu haben scheint. [178].

Dieser Trend zeigte sich in der ebenfalls immunhistochemisch untersuchten Grazer Kohorte nicht.

Betrachtet man die mRNA-Expression von eIF2B5, so lassen sich mehrere signifikante Korrelationen zwischen dieser Expression und weiteren klinisch pathologischen Faktoren feststellen (vgl. Tabelle 3.3.). Hierbei muss man allerdings festhalten, dass in der Metabric-Kohorte deutlich mehr Fälle eingeschlossen wurden, wodurch eine höhere Signifikanz bei niedrigen Unterschieden entsteht.

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen der eIF2B5-Expression auf mRNA-Niveau zeigte sich beim Östrogenrezeptorstatus und der Einteilung in triple-negative Mammakarzinome. War der Östrogenrezeptorstatus positiv, so war vermehrt eine hohe eIF2B5 Expression zu verzeichnen. Dies lässt schlussfolgern, dass der Expressionslevel von eIF2B5 vom Östrogen-Rezeptor-Signalling abhängig sein könnte.

Da triple-negative Mammakarzinome Östrogenrezeptor negativ sind, haben TNBC-Fälle dementsprechend ein geringeres Expressionsniveau.

Ähnliche Expressionsmuster ließen sich bei den anderen eIF2B-Untereinheiten nachweisen.

Bezogen auf den Östrogenrezeptorstatus zeigte sich in den Kreuztabellen ein signifikanter Zusammenhang mit der eIF2B1 und eIF2B2-Expression. Häufig war dort eine erhöhte mRNA-Expression beim Östrogenrezeptorpositiven Mammakarzinom zu sehen. Für die zweite (eIF2B2) und trendartig für die vierte (eIF2B4) Untereinheit des eIF2B-Komplexe zeigte sich zudem häufig erhöhte mRNA-Expression beim Progesteronrezeptor-positiven und nicht-triple negativen Mammakarzinomen. Wie oben beschrieben, lassen sich diese Expressionsmuster durch die Häufigkeitsverteilung beim Mammakarzinom erklären.

Diese signifikanten Ergebnisse ließen sich bei der immunhistochemischen Expressionsanalyse nicht bestätigen. Hierzu müssen auch mehrere Gründe diskutiert werden. Einerseits kann der Fehler in der immunhistochemischen Expressionsanalyse liegen, beispielsweise – wie bereits oben erwähnt – in einer unzureichend sensitiven Antikörperfärbung. Nicht zuletzt kann aber auch die vergleichsweise geringe Anzahl der eingeschlossenen Patientinnen im Vergleich zur deutlich höheren Anzahl, der in der Metabric-Studie eingebrachten Patientinnen-Daten einen Unterschied hervorbringen. Hinzu kommt, dass eine erhöhte mRNA-Expression nicht zwangsläufig eine erhöhte Proteinexpression bedingt.

Des Weiteren ließ sich für die eIF2B1-Untereinheit ein signifikanter Zusammenhang zwischen der mRNA-Expression und dem HER2-neu-Rezeptorstatus vermerken. HER2-neu positive Mammakarzinome waren häufiger eIF2B1 niedrig exprimiert, während HER2-neu positive Mammakarzinome häufiger eIF2B1 hoch exprimiert waren.

Einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Expression der Subunits eIF2B1 und eIF2B2 lässt sich insbesondere vermerken, wenn die Patientin eine Hormontherapie bekommen hat, also der Tumor hormonrezeptor-rezeptor positiv ist. Bei diesen Patientinnen war häufiger eine hohe eIF2B1 bzw. eIF2B2-Expression nachzuweisen. Dieses Phänomen lässt sich dadurch erklären, dass Hormontherapie nur die Patientinnen bekommen können, deren Mammakarzinom Hormonrezeptor-positiv sind [54]. Da eine erhöhte Expression bei Patientinnen, die eine Hormontherapie bekommen haben, festzustellen ist, muss zwangsweise auch eine erhöhte Expression bei Hormonrezeptor-positiven Mammakarzinomen nachweisbar sein, da der positive Hormonrezeptorstatus die Bedingung für die Hormontherapie ist.

Die signifikant höhere Expression von eIF2B1, eIF2B2 und eIF2B5 in Östrogenrezeptor-positiven Mammakarzinomen lässt die Hypothese aufstellen, dass die Expression von eIF2B-Untereinheiten möglicherweise hormonrezeptor-abhängig exprimiert werden.

### 4.3. Expression der eIF2B-Untereinheiten und Überleben

In diesem Abschnitt möchte ich auf die Überlebenskurven in Zusammenhang mit der eIF2B5-Expression und im Verlauf auch mit der Expression der weiteren eIF2B-Untereinheiten eingehen.

Für die immunhistochemischen Kohorten konnte lediglich für die Kohorte aus Magdeburg Überlebenszeitanalysen durchgeführt werden. Wie in Abbildung 3.2. dargestellt, ließen sich keine medianen Überlebenszeiten bei hoher immunhistochemischen eIF2B5-Expression berechnen, da die eIF2B5-positiv gefärbten Fälle alles zensierte Fälle waren. Dies bedeutet allerdings im Umkehrschluss auch, dass kein eIF2B5-positiver Fall in der Magdeburger Kohorte ein Rezidiv oder ein Todesereignis hatte. Als wahrscheinlichste Ursache ist die geringe Anzahl an eIF2B5-positiv gefärbten Tumorschnitten ( $n = 8$ ) zu nennen. Die Kaplan Meier Analyse ergab dementsprechend auch kein signifikantes Ergebnis, auch wenn die Überlebenskurven deutlich unterschiedlich verlaufen.

Betrachtet man zudem die Subgruppe der Mammakarzinome, die zusätzlich eine positive DCIS-Färbung aufwiesen, so zeigt sich auch hier kein signifikanter Unterschied im Gesamt- und krankheitsfreien Überleben in Abhängigkeit von der immunhistochemischen eIF2B5-Expression. Die Fallzahl ist hier allerdings noch niedriger. Diese Ergebnisse lassen die Vermutung nahe, dass eine immunhistochemische eIF2B5-Färbung als prognostischer Marker für das Mammakarzinom keine wesentliche Rolle zu spielen scheint. Um dies aber abschließend zu klären, wäre eine deutlich größere Kohorte notwendig. Möglicherweise ist auch das Expressionsniveau in Mammakarzinomen für den verwendeten Antikörper zu gering, obwohl mit identischen Färbeparametern ein Ergebnis im DLBCL erzielt werden konnte [161].

Betrachten wir nun die Überlebensanalysen für die mRNA-Expression von eIF2B5. Hierfür standen Daten von 2 Kohorten – die Metabric-Kohorte [163] mit 1904 eingeschlossenen Fällen und die KM-Plotter-Kohorte [166,167] mit 4929 Fälle bzw. 1879 Fällen, zur Verfügung.

Bei einem Signifikanzniveau von 99% ließ sich in der Metabric-Kohorte ein signifikanter Überlebensvorteil bei niedriger eIF2B5-Expression nachweisen. Interessanterweise zeigten die Daten des KM-Plotters einen nicht signifikanten Überlebensvorteil bei hoher eIF2B5-Expression an. Bezogen auf das krankheitsfreie Überleben war dieser Vorteil sogar signifikant.

Mögliche Erklärungen finden sich dabei in den gewählten Cut-Off-Werten, in der unterschiedlichen Anzahl an eingeschlossenen Patientinnen, sowie deren Altersstruktur und Methodik der Genexpressionsanalysen in den jeweiligen Kohorten.

Differenziert man die Mammakarzinome anhand ihrer klinisch-pathologischen Daten so lassen sich für die Metabric-Kohorte Überlebensvorteile bei niedriger eIF2B5-Expresion in verschiedenen Subgruppen nachweisen.

Ein signifikant besseres Überleben bei niedriger eIF2B5-mRNA-Expression findet sich bei den Östrogenrezeptor-positiven, Progesteronrezeptor-positiven und HER2-neu-Rezeptor-negativen Mammakarzinomen. Einen trendartigen Überlebensvorteil bei niedriger mRNA-Expression war sowohl bei nodal-positiven, als auch bei nodal-negativen, und bei Mammakarzinomen im TNM-Stadium T=2 zu beobachten.

Vergleicht man diese Ergebnisse mit den Überlebensdaten der Kohorte des KM-Plotters, so finden sich dort einige Diskrepanzen. In dieser Kohorte lässt sich ein trendartiger Überlebensvorteil für HER2-neu-

negative Mammakarzinome mit hoher mRNA-Expression zeigen. Signifikante Überlebensvorteile bei hoher mRNA-Expression zeigen sich dabei sogar im krankheitsfreien Überleben bei HER2-neu-negativen und Östrogenrezeptor-positiven Mammakarzinomen. Diese Diskrepanz lässt sich, wie oben beschrieben, möglicherweise durch die unterschiedlichen Cut-Off-Werte als auch über die unterschiedliche Anzahl der eingeschlossenen Patientinnen erklären.

Bei Betrachtung des Gesamtüberlebens scheint eine hohe eIF2B5-Expression mit einem schlechteren Gesamtüberleben bei Mammakarzinom-Patientinnen einherzugehen. Dies entspricht den Ergebnissen mehrere Studien anderer maligner Neoplasien.

Einerseits konnte Jiao et. al, zeigen, dass eine hohe eIF2B5-Expression mit einer schlechteren Prognose bei Leberzellkarzinomen einhergeht [159], und andererseits konnte dies auch für das diffuse großzellige B-Zell-Lymphom – sowohl auf immunhistochemischer, als auch auf mRNA-Ebene – gezeigt werden [161].

Ebenso scheint eine niedrige eIF2B5-Expression einen Unterschied auf das Ansprechen von Therapien anzuzeigen.

So ist für Patientinnen in der Metabric-Kohorte, die eine Hormontherapie erhalten haben, also HR-positiv waren, das Gesamtüberleben bei niedriger Expression signifikant besser als bei hoher Expression. Dies ist konsistent mit der Beobachtung, dass die Hormonrezeptor-positiven (Östrogenrezeptor und Progesteronrezeptor) Mammakarzinome ebenfalls bei niedriger mRNA-Expression einen signifikanten Überlebensvorteil aufwiesen, da dieser Status die Voraussetzung für Hormontherapie ist. Auch dieser Überlebensvorteil ließ sich in der KM-Plotter-Kohorte nicht verifizieren.

Einen trendartigen Überlebensvorteil bei niedriger Expression zeigte sowohl die Metabric- als auch die KM-Plotter-Kohorte für Patientinnen, die keine Chemotherapie bekommen haben. Da dies vor allem Patientinnen sind, die dementsprechend Hormontherapie (oder Radiotherapie) bekommen haben, spiegelt dies in abgeschwächter Weise den signifikanten Überlebensvorteil der Patientinnen wider, die eine Hormontherapie bekommen haben.

Wie für eIF2B5 war für alle weiteren eIF2B-Subunits in der Metabric-Kohorte – unabhängig von der Signifikanz - ein Überlebensvorteil bei niedriger mRNA-Expression der jeweiligen Untereinheit zu beobachten.

Betrachtet man nur die Östrogenrezeptor-positiven Mammakarzinome so lässt sich ein signifikanter Gesamtüberlebensvorteil bei niedriger eIF2B5-Expression, ein trendartiger Überlebensvorteil bei eIF2B2-niedrig-exprimierten (in der Metabric [163]) und ein signifikanter Überlebensvorteil für eIF2B4-niedrig-exprimierte Mammakarzinome (in der KM-Plotter-Kohorte [166,167]) nachweisen. Da zudem in den Kreuztabellen häufiger eine signifikant höhere Expression von eIF2B1, eIF2B2 und eIF2B5 in den Östrogenrezeptor-positiven Mammakarzinomen in der Metabric-Kohorte nachzuweisen war, kann die Hypothese aufgestellt werden, dass die Expression von eIF2B-Untereinheiten

möglicherweise auch hormonrezeptor-abhängig ist und passend zu seiner Funktion als Nucleotid-Austauschfaktor bei der Translation mit einem Gesamtüberlebensnachteil einhergeht.

Östrogenrezeptor-negative Mammakarzinome weisen einen Unterschied in den Überlebensanalysen in Abhängigkeit von der mRNA-Expression auf. So zeigte sich ein signifikanter Überlebensvorteil bei hoher Expression (in der Kohorte KM-Plotter [166,167]) – sowohl im krankheitsfreien, als auch im Gesamtüberleben für die Untereinheit eIF2B1, während der Überlebensvorteil für die Untereinheiten eIF2B2 (KM-Plotter [166,167]) und eIF2B4 (Metabric [163]) einen Überlebensvorteil für niedrige Expression zeigte. Dies zeigt wiederum, dass eIF2B nicht als ganzer Komplex, sondern seine Untereinheiten explizit untersucht und analysiert werden müssen. Äquivalent zum Östrogenrezeptor-negativen Mammakarzinom verhielt sich die Überlebensanalyse auch beim Progesteronrezeptor-negativen Mammakarzinom. Für diese Subgruppe zeigte sich in der Metabric-Kohorte auch für eIF2B2 ein trendartiger und für eIF2B4 ein signifikanter Überlebensvorteil bei niedriger Expression. Somit scheint sowohl die mRNA-Expression von eIF2B2 und eIF2B4 einen Einfluss auf das Gesamtüberleben auf Hormonrezeptor-negative Mammakarzinome zu haben.

Auch HER2-neu-negative Mammakarzinome zeigen einen Überlebensvorteil in Abhängigkeit von der eIF2B2-Expression, sowohl im krankheitsfreien (KM-Plotter [166,167], als auch Kohorten-übergreifend (Metabric [163] und KM-Plotter [166,167]) im Gesamtüberleben an.

HER2-neu-positive Mammakarzinome hingegen scheinen vermehrt mit der mRNA-Expression von eIF2B1 in Assoziation zu stehen, da es in HER2-neu-positiven Mammakarzinomen häufiger niedrig exprimiert ist und diese zumindest trendartig einen Überlebensvorteil aufweisen.

Mit welchen Mechanismen genau die Expression der eIF2B-Untereinheiten Einfluss auf die verschiedenen Rezeptoren (Östrogenrezeptor, Progesteronrezeptor, HER2-neu-Rezeptor) nimmt oder ob die Rezeptoren die Expression der eIF2B-Untereinheiten beeinflussen, ist noch nicht weiterführend geklärt. Dabei ist aber weiterhin zu bedenken, dass die mRNA-Expression nicht zwangsläufig mit der immunhistochemischen Expression gleichzusetzen ist, was in dieser Arbeit erneut verdeutlicht wurde. Da für eIF2B4 bereits ein signifikanter Überlebensvorteil bei niedriger Expression für Östrogenrezeptor-negative und Progesteronrezeptor-negative Mammakarzinome besteht, wundert es nicht, dass für triple negative Mammakarzinome, definiert als Östrogenrezeptor-, Progesteronrezeptor- und HER2-neu-Rezeptor-negative Mammakarzinome ebenfalls ein Überlebensvorteil bei niedriger Expression nachzuweisen war. Dieser war jedoch nur trendartig, da die mRNA-Expression keinen Einfluss auf das Überleben von HER2-neu-negativen Mammakarzinomen hat.

Gleiche Erklärung gilt für den signifikanten Überlebensvorteil in der Metabric-Kohorte bei eIF2B5-niedrig exprimierten Mammakarzinomen. Da bereits ein signifikanter Überlebensvorteil bei Östrogenrezeptor-positiven und Progesteronrezeptor-positiven Mammakarzinomen nachzuweisen war, liegt es nahe, dass auch nicht-triple-negative Mammakarzinome (definiert als Mammakarzinome mit mindestens einer positiven Rezeptorexpression) einen signifikanten Überlebensvorteil aufweisen.

Das TNM-Stadium scheint auch eine Assoziation mit der Expression der Untereinheiten von eIF2B zu haben. So zeigte sich ein trendartiger Überlebensvorteil bei niedriger eIF2B1-Expression für Mammakarzinome im Stadium T1 und ein trendartiger Überlebensvorteil bei niedriger eIF2B2- und eIF2B5-Expression für Mammakarzinome im Stadium T2. Zudem zeigte die immunhistochemische Kohorte aus Magdeburg, die auch DCIS-Gewebe enthielt, dass Mammakarzinome < T2 häufiger niedrig exprimiert waren. Zusammenfassend scheint eine niedrige Expression der drei Untereinheiten vermehrt bei kleineren Tumoren mit einem besseren Überleben einherzugehen. Umgekehrt bedeutet dies jedoch, dass eine erhöhte Expression – passend zu seiner Funktion als Nukleotid-Austauschfaktor mit resultierender vermehrter Translation - mit einem schlechten Überleben einhergeht.

Da ein trendartiger Zusammenhang zwischen dem Nodalstatus und der eIF2B5-Expression sogar auf immunhistochemischer Ebene gezeigt werden konnte und dabei nachgewiesen werden konnte, dass nodal-positive Mammakarzinome häufiger eIF2B5-niedrig exprimiert sind, war es spannend zu analysieren, inwiefern sich dies auf bioinformatischer (mRNA) Ebene widerspiegelte. Für nodal-positive Mammakarzinome ließ sich dabei für die Untereinheiten  $\beta$  (KM-Plotter [166,167]),  $\gamma$  (KM-Plotter [166,167]),  $\delta$  (KM-Plotter [166,167]) und  $\varepsilon$  (Metabric [163]) sowohl teilweise für das krankheitsfreie (eIF2B3) als auch für das Gesamtüberleben Überlebensvorteile bei niedriger mRNA-Expression nachweisen. Lediglich für die  $\alpha$ -Untereinheit ließ sich ein signifikanter Überlebensvorteil in der KM-Plotter-Kohorte [166,167] bei hoher mRNA-Expression nachweisen. In der Metabric-Kohorte [163] konnte zudem nachgewiesen werden, dass nodal-positive Mammakarzinome häufiger eIF2B1-hochexprimierend sind.

Nodal-negative Mammakarzinome zeigten hingegen Überlebensvorteil bei niedriger Expression von eIF2B1, eIF2B2, eIF2B3 und eIF2B5 auf. Für die fünfte Untereinheit zeigten die KM-Plotter-Kohorte [166,167] und die Metabric-Kohorte [163] divergente Ergebnisse.

Welche Mechanismen die Expression von eIF2B steuern, wenn Mammakarzinome bereits in Lymphknoten Metastasen gebildet haben, ist unklar und bedarf weiterer Forschung. Es konnte hiermit jedoch gezeigt werden, dass eine steigende Malignom-Aggressivität und die mRNA-Expression miteinander assoziiert sind. Ob die Expression den Tumor aggressiver macht oder mit steigender Aggressivität die mRNA-Expression verändert wird, bleibt unklar.

Bekamen die Patientinnen eine Hormontherapie, so zeigte sich in allen Untereinheiten ein zumindest trendartiger, wenn nicht sogar signifikanter Überlebensvorteil bei niedriger Expression, so dass die mRNA-Expression der Untereinheiten von eIF2B ein möglicher Prädiktor für das Ansprechen von Hormontherapie sein kann.

Wie bereits erwähnt, ist auffällig, dass bei allen untersuchten Untereinheiten und Subgruppen der Metabric-Kohorte eine niedrige mRNA-Expression mit einem besseren Überleben einhergeht als mit einer hohen Expression.

Dies entspricht der Funktion von eIF2B als Nucleotid-Austauschfaktor von eIF2. Wird eIF2B – und seine Untereinheiten – höher exprimiert, so findet eine vermehrte Aktivierung von eIF2 statt und die Translation von Zellen - und eben auch maligner Zellen - findet vermutlich vermehrt statt.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass eIF2B5 auf immunhistochemischer Ebene kein guter Kandidat als Prognosefaktor bei Mammakarzinomen zu sein scheint.

Auf mRNA-Niveau jedoch ließen sich für eIF2B5 und auch für die weiteren Subklassen signifikante Überlebensvorteile in beiden mRNA-basierten Kohorten nachweisen, so dass der Nukleotid-Austauschfaktor eIF2B mit seinen Untereinheiten zumindest auf mRNA-Niveau als Prognosefaktor dienen kann.

Die unterschiedlichen Ergebnisse auf mRNA-Niveau und auf Proteinkomplex-Niveau (immunhistochemische Färbung), die teilweise stark divergieren, betonen erneut, dass eine starke mRNA-Expression nicht zwangsläufig mit einer starken immunhistochemischen Färbung einhergeht. Dies kann viele verschiedene Gründe haben, wie zum Beispiel Unterschiede in der Halbwertszeit der Proteinkomplexe oder die Translationseffizienz. RNA und Proteine müssen demnach weiterhin klar voneinander getrennt betrachtet und analysiert werden. Weiterhin ist möglich, dass die freien Untereinheiten eigene Funktionen haben, die mit der Funktion im Proteinkomplex divergieren können oder nichts mit der Funktion des Proteinkomplexes zu tun haben.

Nichtsdestotrotz kann die mRNA-Expression ein Prädiktor für das Ansprechen von Therapien sein, da eine niedrige mRNA-Expression der eIF2B-Subunits und auch der der Subunit eIF2B5 mit einem besseren Ansprechen auf Hormontherapie und damit mit einem prognostisch günstigeren Überleben assoziiert ist.

#### 4.4. eIF2B-Expression und therapeutische Ansätze:

Wie in der Einleitung (s. Abschnitt 1.2.) dargestellt, spielt eIF2B mit seinen Untereinheiten eine wichtige Rolle in der Kontrolle der Translation. Zudem konnte im Abschnitt 1.2.3. die klinische Relevanz von eIF2B, vor allem bei Mutationen im *eIF2B*-Gen, dargestellt werden. Bei einer Überexpression von eIF2 $\alpha$  kommt es zu einer unlimitierten Translation, die die Entstehung maligner Zellen fördert [151–153]. Zusammenhänge wurden bereits zwischen eIF2B bei verschiedenen Tumorentitäten wie dem Mammakarzinom [154–157], Kolorektalen Karzinom [158], Hepatozellulären Karzinom [159], Ovarial-Karzinom [160] und diffus-großzelligen B-Zell-Lymphom [161] aufgezeigt.

Zudem wurde die neurologische Krankheit Vanishing-White-Matter Disease im Zusammenhang mit einer *eIF2B*-Gen-Mutation gebracht [146], bei der eine Missense-Mutation in einer der eIF2B-Untereinheiten eine Unteraktivität von eIF2B hervorruft, welche wieder zu einer erhöhten Stressantwort (integrative stress response) führt [144].

Erste experimentelle Medikamente, die die eIF2 $\alpha$ -Phosphorylierung hemmen sollen und somit den eIF2B-Komplex als Angriffspunkt nehmen, sind mit „ISRIB“ (integrated stress response inhibitor) in



---

experimenteller Forschung. ISRIB wirkt dabei als selektiver PERK-Inhibitor [179], der das regulierende Enzym PERK (PKR-like endoplasmic reticulum kinase) hemmt und somit weniger phosphoryliertes eIF2 $\alpha$  entstehen kann, welches eIF2B hemmen kann. Somit wird die Unteraktivität von eIF2B, welche bei Vanishing white matter disease vorliegt [148] aufgehoben und der erhöhten Stressantwort, die bei manchen kognitiven Krankheitsspektren wie Vanishing white matter disease, ein wesentlicher Bestandteil des Pathomechanismus ist, wird entgegengewirkt [144].

Dieser therapeutische Ansatz lässt sich schwierig auf maligne Neoplasien übertragen, da bei eben diesen eine Überaktivität von eIF2B mit einer vermehrten Translation – und ggf. mit Transformation von normalen in malignen Zellen – der zugrundeliegende Pathomechanismus ist, und nicht eine verminderte Aktivität von eIF2B mit einer konsekutiven erhöhten Stressantwort.

---

#### 4.5. Kritische Betrachtung der Relevanz der eIF2B-Expression als Tumorfaktor beim Mammakarzinom

Die klinische Relevanz dieser Ergebnisse mag insofern limitiert sein, als dass Genexpressionsanalysen etwa über qRT-PCR (Real-Time Polymerase-Chain-Reaction) eine in der Praxis nicht gängige und selten benutzte Methode für Tumor- und Prognosefaktoren ist. Hierbei würde sich die immunhistochemische Analyse deutlich besser anbieten, da diese die etablierte und kostengünstigere Alternative ist. Leider erwies sich bei dieser Studie eIF2B5 als Prognosefaktor für das Mammakarzinom auf immunhistochemischer Ebene als ungeeignet, bzw. ist der verwendete, wenn auch bereits etablierte Antikörper zu insensitiv für Mammakarzinome.

Dies zeigt auch die Schwächen dieser hier durchgeführten Studie auf. So ist sowohl ein deutlicher Unterschied in der Anzahl der untersuchten Mammakarzinome auf immunhistochemischer Ebene und mRNA-Ebene festzustellen als auch, dass die Anzahl der eingeschlossenen Mammakarzinom-Patientinnen der Magdeburger- und vor allem der Grazer Kohorte, also der Kohorten, die immunhistochemisch untersucht wurden, eine geringe und unterschiedliche positive Fallzahl für eIF2B5 aufweisen. Hinzu kommt, dass unterschiedliche Subgruppen gebildet wurden.

Vergleicht man die Kohorten aus den Biodatenbanken so lassen sich auch unterschiedliche Ergebnisse festhalten. Dies zeigt wiederum, dass immer mehr Studien miteinander verglichen werden sollten.

## 5. Zusammenfassung

### eIF2B5 als Tumorfaktor und Prognoseparameter für das Mammakarzinom

Als der weltweit mit der höchsten Inzidenz vorliegende maligne Tumor spielt das Mammakarzinom eine wesentliche Rolle bei den tumor-assoziierten Todesfällen. Neben der TNM-Klassifikation und dem Grading gibt es weitere prognostische und prädiktive Faktoren, wie unterschiedliche Hormonrezeptor- oder der HER2/neu-Status.

eIF2B5 ist eine Untereinheit eines Nukleotid-Austauschfaktors von eIF2, welches als eukaryotischer Initiationsfaktor eine tragende Rolle in der Translation von Zellen spielt. Die klinische Relevanz von eIF2B5 konnte in einigen Studien sowohl in neurologischen Krankheitsbildern wie der Vanishing White Matter Disease, als auch in malignen Erkrankungen dargestellt werden.

Ziel dieser Dissertation war es, eIF2B5 als Tumorfaktor und/oder Prognosefaktor für das Mammakarzinom zu evaluieren.

Während bei immunhistochemischer Betrachtung der eIF2B5-Expression, auch auf Grund der geringen Zahl positiver Fälle, kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Expression, dem Überleben und wichtigen klinisch-pathologischen Parametern gezeigt werden konnte, so ließen mehrere Ergebnisse aus den Datenbankanalysen einen Zusammenhang zwischen der Expression von eIF2B5 mit diesen Faktoren vermuten.

Ein weiterer wichtiger Bestandteil der Studie war daher die Korrelation der mRNA-Expression der eIF2B-Untereinheiten mit klinisch pathologischen Charakteristika der Mammakarzinome, als auch die Analyse der eIF2B5-Expression als Prognoseparameter für das Mammakarzinom.

Hier ließ sich deutlich zeigen, dass eine niedrige mRNA-Expression von eIF2B5 und auch den weiteren Untereinheiten von eIF2B mit einem signifikanten Überlebensvorteil bei Patientinnen, die eine Hormontherapie bekommen haben, einhergeht und somit eIF2B5, bzw. der eIF2B-Komplex als prädiktiver Faktor für Patientinnen mit Mammakarzinom dienen kann.

---

## Literaturverzeichnis

- [1] Gao, J., B.A. Aksoy, U. Dogrusoz, et al.: Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal. *Science signaling* 6. p11 (2013).
- [2] WHO and International Agency for Research on Cancer: Cancer today(2021). Online: <https://gco.iarc.fr/today/fact-sheets-populations>(Stand: 22.02.2021).
- [3] Libson, S., M. Lippman: A review of clinical aspects of breast cancer. *International review of psychiatry* (Abingdon, England) 26. 4–15 (2014).
- [4] Robert Koch-Institut: Krebs in Deutschland 2011/2012. Gesundheitsberichterstattung des Bundes. 10. Ausg. 2015 2015
- [5] Chlebowski, R.T., L.H. Kuller, R.L. Prentice, et al.: Breast cancer after use of estrogen plus progestin in postmenopausal women. *New England Journal of Medicine* 360. 573–587 (2009).
- [6] Smigal, C., A. Jemal, E. Ward, et al.: Trends in breast cancer by race and ethnicity: update 2006. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 56. 168–183 (2006).
- [7] Tryggvadóttir, L., M. Gislum, F. Bray, et al.: Trends in the survival of patients diagnosed with breast cancer in the Nordic countries 1964-2003 followed up to the end of 2006. *Acta Oncologica* 49. 624–631 (2010).
- [8] Rosso, S., A. Gondos, R. Zanetti, et al.: Up-to-date estimates of breast cancer survival for the years 2000-2004 in 11 European countries: the role of screening and a comparison with data from the United States. *European journal of cancer* (Oxford, England : 1990) 46. 3351–3357 (2010).
- [9] Holleczeck, B., V. Arndt, C. Stegmaier, et al.: Trends in breast cancer survival in Germany from 1976 to 2008--a period analysis by age and stage. *Cancer Epidemiology* 35. 399–406 (2011).
- [10] Albert, U.-S.: Stufe-3-Leitlinie Brustkrebs-Früherkennung in Deutschland. *Konzertierte Aktion Brustkrebs-Früherkennung in Deutschland*, 1st ed. Zuckschwerdt. München 2008.
- [11] World Health Organization: WHO position paper on mammography screening, 78 pp. Geneva. World Health Organization 2014
- [12] Hendrick, R.E., R.A. Smith, J.H. Rutledge, et al.: Benefit of screening mammography in women aged 40-49: a new meta-analysis of randomized controlled trials. *JNCI Monographs* 1997. 87–92 (1997).
- [13] Torre, L.A., F. Bray, R.L. Siegel, et al.: Global cancer statistics, 2012. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 65. 87–108 (2015).
- [14] Nothacker, M., V. Duda, M. Hahn, et al.: Early detection of breast cancer: benefits and risks of supplemental breast ultrasound in asymptomatic women with mammographically dense breast tissue. A systematic review. *BMC Cancer* 9. 335 (2009).
- [15] Melnikow, J., J.J. Fenton, E.P. Whitlock, et al.: Supplemental Screening for Breast Cancer in Women With Dense Breasts: A Systematic Review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Annals of internal medicine* 164. 268–278 (2016).
- [16] Ohuchi, N., A. Suzuki, T. Sobue, et al.: Sensitivity and specificity of mammography and adjunctive ultrasonography to screen for breast cancer in the Japan Strategic Anti-cancer Randomized Trial (J-START): a randomised controlled trial. *The Lancet* 387. 341–348 (2016).
- [17] Brentnall, A.R., E.F. Harkness, S.M. Astley, et al.: Mammographic density adds accuracy to both the Tyrer-Cuzick and Gail breast cancer risk models in a prospective UK screening cohort. *Breast Cancer Res* 17. 147 (2015).
- [18] Kerlikowske, K., W. Zhu, A.N.A. Tosteson, et al.: Identifying women with dense breasts at high risk for interval cancer: a cohort study. *Annals of internal medicine* 162. 673–681 (2015).
- [19] Houssami, N., L.A. Abraham, K. Kerlikowske, et al.: Risk factors for second screen-detected or interval breast cancers in women with a personal history of breast cancer participating in mammography screening. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the*

- 
- American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology 22. 946–961 (2013).
- [20] Bérubé, S., J. Lemieux, L. Moore, et al.: Smoking at time of diagnosis and breast cancer-specific survival: new findings and systematic review with meta-analysis. *Breast Cancer Res* 16. R42 (2014).
  - [21] Nechuta, S., W.Y. Chen, H. Cai, et al.: A pooled analysis of post-diagnosis lifestyle factors in association with late estrogen-receptor-positive breast cancer prognosis. *International journal of cancer* 138. 2088–2097 (2016).
  - [22] Euhus, D.M., L. Robinson: Genetic predisposition syndromes and their management. *The Surgical clinics of North America* 93. 341–362 (2013).
  - [23] Antoniou, A.C., S. Casadei, T. Heikkinen, et al.: Breast-cancer risk in families with mutations in PALB2. *New England Journal of Medicine* 371. 497–506 (2014).
  - [24] Mavaddat, N., T.R. Rebbeck, S.R. Lakhani, et al.: Incorporating tumour pathology information into breast cancer risk prediction algorithms. *Breast Cancer Res* 12. R28 (2010).
  - [25] Lakhani, S.R., I.O. Ellis, S.J. Schnitt, et al.: WHO classification of the breast. *World Health Organization Classification of Tumours*, 240 pp. Lyon. IARC Press 2012
  - [26] Honrado, E., A. Osorio, J. Palacios, et al.: Pathology and gene expression of hereditary breast tumors associated with BRCA1, BRCA2 and CHEK2 gene mutations. *Oncogene* 25. 5837–5845 (2006).
  - [27] Brierley, J., M.K. Gospodarowicz, C. Wittekind: *TNM classification of malignant tumours*. John Wiley & Sons Inc. Chichester, West Sussex, UK, Hoboken, NJ 2017.
  - [28] Olivetto, I., M. Levine: Clinical practice guidelines for the care and treatment of breast cancer: the management of ductal carcinoma in situ (summary of the 2001 update). *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne* 165. 912–913 (2001).
  - [29] Leitlinienprogramm Onkologie der Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V. (AWMF), Deutschen Krebsgesellschaft e.V. (DKG) und Deutschen Krebshilfe (DKH: Interdisziplinäre S3-Leitlinie für die Früherkennung, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms(2020).
  - [30] Sinn, H.-P., H. Kreipe: A Brief Overview of the WHO Classification of Breast Tumors, 4th Edition, Focusing on Issues and Updates from the 3rd Edition. *Breast care (Basel, Switzerland)* 8. 149–154 (2013).
  - [31] Elston, C.W., I.O. Ellis: 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 (1991).
  - [32] Coates, A.S., E.P. Winer, A. Goldhirsch, et al.: Tailoring therapies--improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* 26. 1533–1546 (2015).
  - [33] Curigliano, G., H.J. Burstein, E.P. Winer, et al.: De-escalating and escalating treatments for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Expert Consensus Conference on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2017. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* 28. 1700–1712 (2017).
  - [34] Hammond, M.E.H., D.F. Hayes, M. Dowsett, et al.: American Society of Clinical Oncology/College Of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 28. 2784–2795 (2010).

- 
- [35] Nofech-Mozes, S., E.T. Vella, S. Dhesy-Thind, et al.: Systematic review on hormone receptor testing in breast cancer. *Applied immunohistochemistry & molecular morphology : AIMM* 20. 214–263 (2012).
  - [36] Wolff, A.C., M.E.H. Hammond, D.G. Hicks, et al.: 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* 31. 3997–4013 (2013).
  - [37] Perou, C.M., T. Sørli, M.B. Eisen, et al.: Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 406. 747–752 (2000).
  - [38] Cheang, M.C.U., S.K. Chia, D. Voduc, et al.: Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute* 101. 736–750 (2009).
  - [39] Prat, A., M.C.U. Cheang, M. Martín, et al.: Prognostic significance of progesterone receptor-positive tumor cells within immunohistochemically defined luminal A breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 31. 203–209 (2013).
  - [40] Hugh, J., J. Hanson, M.C.U. Cheang, et al.: Breast cancer subtypes and response to docetaxel in node-positive breast cancer: use of an immunohistochemical definition in the BCIRG 001 trial. *Journal of Clinical Oncology* 27. 1168–1176 (2009).
  - [41] Guido, L.P., C. Gomez-Fernandez: Advances in the Molecular Taxonomy of Breast Cancer. *Archives of medical research* 51. 777–783 (2020).
  - [42] Lehmann, B.D., J.A. Bauer, X. Chen, et al.: Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *The Journal of clinical investigation* 121. 2750–2767 (2011).
  - [43] ONKOPEDIA: Mammakarzinom der Frau, 01/2018,. Online: <https://www.onkopedia.com/s/87LMV1>, (Stand: Zugriff am 22.09.2024).
  - [44] Committee, N.: Diagnosis, staging and treatment of patients with breast cancer. national clinical guideline no. 7(2015).
  - [45] Moran, M.S., S.J. Schnitt, A.E. Giuliano, et al.: Society of Surgical Oncology-American Society for Radiation Oncology consensus guideline on margins for breast-conserving surgery with whole-breast irradiation in stages I and II invasive breast cancer. *International journal of radiation oncology, biology, physics* 88. 553–564 (2014).
  - [46] Houssami, N., P. Macaskill, M.L. Marinovich, et al.: The association of surgical margins and local recurrence in women with early-stage invasive breast cancer treated with breast-conserving therapy: a meta-analysis. *Annals of surgical oncology* 21. 717–730 (2014).
  - [47] Fisher, B., S. Anderson, J. Bryant, et al.: Twenty-year follow-up of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer. *New England Journal of Medicine* 347. 1233–1241 (2002).
  - [48] Jones, H.A., N. Antonini, A.A.M. Hart, et al.: Impact of pathological characteristics on local relapse after breast-conserving therapy: a subgroup analysis of the EORTC boost versus no boost trial. *Journal of Clinical Oncology* 27. 4939–4947 (2009).
  - [49] Fisher, B., S. Anderson: Conservative surgery for the management of invasive and noninvasive carcinoma of the breast: NSABP trials. National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project. *World journal of surgery* 18. 63–69 (1994).
  - [50] New Zealand Guidelines Group: Management of early breast cancer. Evidence-based best practice guideline, 218 pp. Wellington, N.Z. New Zealand Guidelines Group 2009
  - [51] Voogd, A.C., M. Nielsen, J.L. Peterse, et al.: Differences in risk factors for local and distant recurrence after breast-conserving therapy or mastectomy for stage I and II breast cancer: pooled results of two large European randomized trials. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 19. 1688–1697 (2001).

- 
- [52] Krag, D.N., S.J. Anderson, T.B. Julian, et al.: Sentinel-lymph-node resection compared with conventional axillary-lymph-node dissection in clinically node-negative patients with breast cancer: overall survival findings from the NSABP B-32 randomised phase 3 trial. *The Lancet Oncology* 11. 927–933 (2010).
- [53] Lyman, G.H., S. Temin, S.B. Edge, et al.: Sentinel lymph node biopsy for patients with early-stage breast cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update. *Journal of Clinical Oncology* 32. 1365–1383 (2014).
- [54] National Institute for Health and Care Excellence (UK): Advanced breast cancer: diagnosis and treatment. London. National Institute for Health and Care Excellence (UK) 2017
- [55] Giuliano, A.E., D.M. Kirgan, J.M. Guenther, et al.: Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Annals of Surgery* 220. 391-8; discussion 398-401 (1994).
- [56] Mansel, R.E., L. Fallowfield, M. Kissin, et al.: Randomized multicenter trial of sentinel node biopsy versus standard axillary treatment in operable breast cancer: the ALMANAC Trial. *Journal of the National Cancer Institute* 98. 599–609 (2006).
- [57] Houssami, N., S. Ciatto, R.M. Turner, et al.: Preoperative ultrasound-guided needle biopsy of axillary nodes in invasive breast cancer: meta-analysis of its accuracy and utility in staging the axilla. *Annals of Surgery* 254. 243–251 (2011).
- [58] Darby, S., P. McGale, C. Correa, et al.: Effect of radiotherapy after breast-conserving surgery on 10-year recurrence and 15-year breast cancer death: meta-analysis of individual patient data for 10 801 women in 17 randomised trials. *The Lancet* 378. 1707–1716 (2011).
- [59] Clarke, M., R. Collins, S. Darby, et al.: Effects of radiotherapy and of differences in the extent of surgery for early breast cancer on local recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *The Lancet* 366. 2087–2106 (2005).
- [60] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG): Effect of radiotherapy after mastectomy and axillary surgery on 10-year recurrence and 20-year breast cancer mortality: meta-analysis of individual patient data for 8135 women in 22 randomised trials. *The Lancet* 383. 2127–2135 (2014).
- [61] Bentzen, S.M., R.K. Agrawal, E.G. Aird, et al.: The UK Standardisation of Breast Radiotherapy (START) Trial B of radiotherapy hypofractionation for treatment of early breast cancer: a randomised trial. *The Lancet* 371. 1098–1107 (2008).
- [62] Haviland, J.S., J.R. Owen, J.A. Dewar, et al.: The UK Standardisation of Breast Radiotherapy (START) trials of radiotherapy hypofractionation for treatment of early breast cancer: 10-year follow-up results of two randomised controlled trials. *The Lancet Oncology* 14. 1086–1094 (2013).
- [63] Shaitelman, S.F., P.J. Schlembach, I. Arzu, et al.: Acute and Short-term Toxic Effects of Conventionally Fractionated vs Hypofractionated Whole-Breast Irradiation: A Randomized Clinical Trial. *JAMA oncology* 1. 931–941 (2015).
- [64] Whelan, T.J., J.-P. Pignol, M.N. Levine, et al.: Long-term results of hypofractionated radiation therapy for breast cancer. *New England Journal of Medicine* 362. 513–520 (2010).
- [65] Zhou, Z.-R., X. Mei, X.-X. Chen, et al.: Systematic review and meta-analysis comparing hypofractionated with conventional fraction radiotherapy in treatment of early breast cancer. *Surgical oncology* 24. 200–211 (2015).
- [66] Romestaing, P., Y. Lehingue, C. Carrie, et al.: Role of a 10-Gy boost in the conservative treatment of early breast cancer: results of a randomized clinical trial in Lyon, France. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 15. 963–968 (1997).

- 
- [67] Bartelink, H., P. Maingon, P. Poortmans, et al.: Whole-breast irradiation with or without a boost for patients treated with breast-conserving surgery for early breast cancer: 20-year follow-up of a randomised phase 3 trial. *The Lancet Oncology* 16. 47–56 (2015).
  - [68] Bartelink, H., R.D. Rubens, E. van der Schueren, et al.: Hormonal therapy prolongs survival in irradiated locally advanced breast cancer: a European Organization for Research and Treatment of Cancer Randomized Phase III Trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 15. 207–215 (1997).
  - [69] Scotti, V., I. Desideri, I. Meattini, et al.: Management of inflammatory breast cancer: focus on radiotherapy with an evidence-based approach. *Cancer treatment reviews* 39. 119–124 (2013).
  - [70] Eifel, P., J.A. Axelson, J. Costa, et al.: National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: adjuvant therapy for breast cancer, November 1-3, 2000. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* 93. 979–989 (2001).
  - [71] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG): Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *The Lancet* 365. 1687–1717 (2005).
  - [72] Peto, R., C. Davies, J. Godwin, et al.: Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: meta-analyses of long-term outcome among 100 000 women in 123 randomised trials. *The Lancet* 379. 432–444 (2012).
  - [73] Qin, Y.-Y., H. Li, X.-J. Guo, et al.: Adjuvant chemotherapy, with or without taxanes, in early or operable breast cancer: a meta-analysis of 19 randomized trials with 30698 patients. *PLoS ONE* 6. e26946 (2011).
  - [74] Bonadonna, G., M. Zambetti, P. Valagussa: Sequential or alternating doxorubicin and CMF regimens in breast cancer with more than three positive nodes. Ten-year results. *JAMA* 273. 542–547 (1995).
  - [75] Del Mastro, L., S. de Placido, P. Bruzzi, et al.: Fluorouracil and dose-dense chemotherapy in adjuvant treatment of patients with early-stage breast cancer: an open-label, 2 × 2 factorial, randomised phase 3 trial. *The Lancet* 385. 1863–1872 (2015).
  - [76] Eiermann, W., T. Pienkowski, J. Crown, et al.: Phase III study of doxorubicin/cyclophosphamide with concomitant versus sequential docetaxel as adjuvant treatment in patients with human epidermal growth factor receptor 2-normal, node-positive breast cancer: BCIRG-005 trial. *Journal of Clinical Oncology* 29. 3877–3884 (2011).
  - [77] Francis, P., J. Crown, A. Di Leo, et al.: Adjuvant chemotherapy with sequential or concurrent anthracycline and docetaxel: Breast International Group 02-98 randomized trial. *Journal of the National Cancer Institute* 100. 121–133 (2008).
  - [78] Moebus, V., C. Jackisch, H.-J. Lueck, et al.: Intense dose-dense sequential chemotherapy with epirubicin, paclitaxel, and cyclophosphamide compared with conventionally scheduled chemotherapy in high-risk primary breast cancer: mature results of an AGO phase III study. *Journal of Clinical Oncology* 28. 2874–2880 (2010).
  - [79] Citron, M.L., D.A. Berry, C. Cirincione, et al.: Randomized trial of dose-dense versus conventionally scheduled and sequential versus concurrent combination chemotherapy as postoperative adjuvant treatment of node-positive primary breast cancer: first report of Intergroup Trial C9741/Cancer and Leukemia Group B Trial 9741. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 21. 1431–1439 (2003).
  - [80] Buus, R., I. Sestak, R. Kronenwett, et al.: Molecular Drivers of Oncotype DX, Prosigna, EndoPredict, and the Breast Cancer Index: A TransATAC Study. *Journal of Clinical Oncology* 39. 126–135 (2021).



- 
- [81] Kaufmann, M., G.N. Hortobagyi, A. Goldhirsch, et al.: Recommendations from an international expert panel on the use of neoadjuvant (primary) systemic treatment of operable breast cancer: an update. *Journal of Clinical Oncology* 24. 1940–1949 (2006).
- [82] Wolmark, N., J. Wang, E. Mamounas, et al.: Preoperative chemotherapy in patients with operable breast cancer: nine-year results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18. *JNCI Monographs* 2001. 96–102 (2001).
- [83] Eisen, A., G.G. Fletcher, S. Gandhi, et al.: Optimal systemic therapy for early breast cancer in women: a clinical practice guideline. *Current Oncology* 22. S67-81 (2015).
- [84] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG): Relevance of breast cancer hormone receptors and other factors to the efficacy of adjuvant tamoxifen: patient-level meta-analysis of randomised trials. *The Lancet* 378. 771–784 (2011).
- [85] Coombes, R.C., L.S. Kilburn, C.F. Snowdon, et al.: Survival and safety of exemestane versus tamoxifen after 2–3 years' tamoxifen treatment (Intergroup Exemestane Study): a randomised controlled trial. *The Lancet* 369. 559–570 (2007).
- [86] Cuzick, J., I. Sestak, M. Baum, et al.: Effect of anastrozole and tamoxifen as adjuvant treatment for early-stage breast cancer: 10-year analysis of the ATAC trial. *The Lancet Oncology* 11. 1135–1141 (2010).
- [87] Goss, P.E., J.N. Ingle, J.L. Pater, et al.: Late extended adjuvant treatment with letrozole improves outcome in women with early-stage breast cancer who complete 5 years of tamoxifen. *Journal of Clinical Oncology* 26. 1948–1955 (2008).
- [88] Thürlimann, B., A. Keshaviah, A.S. Coates, et al.: A comparison of letrozole and tamoxifen in postmenopausal women with early breast cancer. *New England Journal of Medicine* 353. 2747–2757 (2005).
- [89] Ellis, M.J., A. Coop, B. Singh, et al.: Letrozole is more effective neoadjuvant endocrine therapy than tamoxifen for ErbB-1- and/or ErbB-2-positive, estrogen receptor-positive primary breast cancer: evidence from a phase III randomized trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 19. 3808–3816 (2001).
- [90] Smith, I.E., M. Dowsett, S.R. Ebbs, et al.: Neoadjuvant treatment of postmenopausal breast cancer with anastrozole, tamoxifen, or both in combination: the Immediate Preoperative Anastrozole, Tamoxifen, or Combined with Tamoxifen (IMPACT) multicenter double-blind randomized trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 23. 5108–5116 (2005).
- [91] Spring, L.M., A. Gupta, K.L. Reynolds, et al.: Neoadjuvant Endocrine Therapy for Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA oncology* 2. 1477–1486 (2016).
- [92] Romond, E.H., E.A. Perez, J. Bryant, et al.: Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *New England Journal of Medicine* 353. 1673–1684 (2005).
- [93] Dahabreh, I.J., H. Linardou, F. Siannis, et al.: Trastuzumab in the adjuvant treatment of early-stage breast cancer: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *The oncologist* 13. 620–630 (2008).
- [94] Perez, E.A., E.H. Romond, V.J. Suman, et al.: Four-year follow-up of trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer: joint analysis of data from NCCTG N9831 and NSABP B-31. *Journal of Clinical Oncology* 29. 3366–3373 (2011).
- [95] Smith, I., M. Procter, R.D. Gelber, et al.: 2-year follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer: a randomised controlled trial. *The Lancet* 369. 29–36 (2007).

- 
- [96] Piccart-Gebhart, M.J., M. Procter, B. Leyland-Jones, et al.: Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *New England Journal of Medicine* 353. 1659–1672 (2005).
- [97] Joensuu, H., P.-L. Kellokumpu-Lehtinen, P. Bono, et al.: Adjuvant docetaxel or vinorelbine with or without trastuzumab for breast cancer. *New England Journal of Medicine* 354. 809–820 (2006).
- [98] Roche Pharma AG: Perjeta, INN-pertuzumab.
- [99] Cimino-Mathews, A., E. Thompson, J.M. Taube, et al.: PD-L1 (B7-H1) expression and the immune tumor microenvironment in primary and metastatic breast carcinomas. *Human Pathology* 47. 52–63 (2016).
- [100] Li, X., M. Li, Z. Lian, et al.: Prognostic Role of Programmed Death Ligand-1 Expression in Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Targeted oncology* 11. 753–761 (2016).
- [101] Schmid, P., S. Adams, H.S. Rugo, et al.: Atezolizumab and Nab-Paclitaxel in Advanced Triple-Negative Breast Cancer. *New England Journal of Medicine* 379. 2108–2121 (2018).
- [102] Kwapisz, D.: Pembrolizumab and atezolizumab in triple-negative breast cancer. *Cancer Immunol Immunother* 70. 607–617 (2021).
- [103] Adams, S., P. Schmid, H.S. Rugo, et al.: Pembrolizumab monotherapy for previously treated metastatic triple-negative breast cancer: cohort A of the phase II KEYNOTE-086 study. *Annals of Oncology* 30. 397–404 (2019).
- [104] Adams, S., S. Loi, D. Toppmeyer, et al.: Pembrolizumab monotherapy for previously untreated, PD-L1-positive, metastatic triple-negative breast cancer: cohort B of the phase II KEYNOTE-086 study. *Annals of Oncology* 30. 405–411 (2019).
- [105] Schmid, P., J. Cortes, L. Pusztai, et al.: Pembrolizumab for Early Triple-Negative Breast Cancer. *New England Journal of Medicine* 382. 810–821 (2020).
- [106] Cardoso, F., A. Costa, E. Senkus, et al.: 3rd ESO-ESMO International Consensus Guidelines for Advanced Breast Cancer (ABC 3). *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* 28. 16–33 (2017).
- [107] Fossati, R., C. Confalonieri, V. Torri, et al.: Cytotoxic and hormonal treatment for metastatic breast cancer: a systematic review of published randomized trials involving 31,510 women. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 16. 3439–3460 (1998).
- [108] Rugo, H.S., R.B. Rumble, E. Macrae, et al.: Endocrine Therapy for Hormone Receptor-Positive Metastatic Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology Guideline. *Journal of Clinical Oncology* 34. 3069–3103 (2016).
- [109] Stockler, M., N.R. Wilcken, D. Ghersi, et al.: Systematic reviews of chemotherapy and endocrine therapy in metastatic breast cancer. *Cancer treatment reviews* 26. 151–168 (2000).
- [110] Dear, R.F., K. McGeechan, M.C. Jenkins, et al.: Combination versus sequential single agent chemotherapy for metastatic breast cancer. *The Cochrane database of systematic reviews*. CD008792 (2013).
- [111] Paridaens, R., L. Dirix, C. Lohrisch, et al.: Mature results of a randomized phase II multicenter study of exemestane versus tamoxifen as first-line hormone therapy for postmenopausal women with metastatic breast cancer. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* 14. 1391–1398 (2003).
- [112] Giordano, S.H., S. Temin, J.J. Kirshner, et al.: Systemic therapy for patients with advanced human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline. *Journal of Clinical Oncology* 32. 2078–2099 (2014).
- [113] Verma, S., D. Miles, L. Gianni, et al.: Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer. *New England Journal of Medicine* 367. 1783–1791 (2012).

- 
- [114] Cortés, J., S.-B. Kim, W.-P. Chung, et al.: Trastuzumab Deruxtecan versus Trastuzumab Emtansine for Breast Cancer. *New England Journal of Medicine* 386. 1143–1154 (2022).
  - [115] Tripathy, D., S.-A. Im, M. Colleoni, et al.: Ribociclib plus endocrine therapy for premenopausal women with hormone-receptor-positive, advanced breast cancer (MONALEESA-7): a randomised phase 3 trial. *The Lancet Oncology* 19. 904–915 (2018).
  - [116] Im, S.-A., Y.-S. Lu, A. Bardia, et al.: Overall Survival with Ribociclib plus Endocrine Therapy in Breast Cancer. *New England Journal of Medicine* 381. 307–316 (2019).
  - [117] Johnston, S., M. Martin, A. Di Leo, et al.: MONARCH 3 final PFS: a randomized study of abemaciclib as initial therapy for advanced breast cancer. *NPJ breast cancer* 5. 5 (2019).
  - [118] Finn, R.S., J.P. Crown, I. Lang, et al.: The cyclin-dependent kinase 4/6 inhibitor palbociclib in combination with letrozole versus letrozole alone as first-line treatment of oestrogen receptor-positive, HER2-negative, advanced breast cancer (PALOMA-1/TRIO-18): a randomised phase 2 study. *The Lancet Oncology* 16. 25–35 (2015).
  - [119] Cortesi, L., H.S. Rugo, C. Jackisch: An Overview of PARP Inhibitors for the Treatment of Breast Cancer. *Targeted oncology* 16. 255–282 (2021).
  - [120] Rakha, E.A., S. Martin, A.H.S. Lee, et al.: The prognostic significance of lymphovascular invasion in invasive breast carcinoma. *Cancer* 118. 3670–3680 (2012).
  - [121] Gujam, F.J.A., J.J. Goings, J. Edwards, et al.: The role of lymphatic and blood vessel invasion in predicting survival and methods of detection in patients with primary operable breast cancer. *Critical reviews in oncology/hematology* 89. 231–241 (2014).
  - [122] Lee, A.K., M. Loda, G. Mackarem, et al.: Lymph node negative invasive breast carcinoma 1 centimeter or less in size (T1a,bNOMO): clinicopathologic features and outcome. *Cancer* 79. 761–771 (1997).
  - [123] Leitner, S.P., A.S. Swern, D. Weinberger, et al.: Predictors of recurrence for patients with small (one centimeter or less) localized breast cancer (T1a,b N0 M0). *Cancer* 76. 2266–2274 (1995).
  - [124] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG): Ovarian ablation for early breast cancer. *The Cochrane database of systematic reviews*. CD000485 (2000).
  - [125] Freedman, O.C., G.G. Fletcher, S. Gandhi, et al.: Adjuvant endocrine therapy for early breast cancer: a systematic review of the evidence for the 2014 Cancer Care Ontario systemic therapy guideline. *Current oncology (Toronto, Ont.)* 22. S95-S113 (2015).
  - [126] Houssami, N., P. Macaskill, G. von Minckwitz, et al.: Meta-analysis of the association of breast cancer subtype and pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)* 48. 3342–3354 (2012).
  - [127] Minckwitz, G. von, M. Untch, E. Nüesch, et al.: Impact of treatment characteristics on response of different breast cancer phenotypes: pooled analysis of the German neo-adjuvant chemotherapy trials. *Breast cancer research and treatment* 125. 145–156 (2011).
  - [128] Rassow, J.: *Biochemie. Duale Reihe*. Stuttgart. Thieme 2006
  - [129] Rowlands, A.G., R. Panniers, E.C. Henshaw: The catalytic mechanism of guanine nucleotide exchange factor action and competitive inhibition by phosphorylated eukaryotic initiation factor 2. *The Journal of biological chemistry* 263. 5526–5533 (1988).
  - [130] Proud, C.G.: eIF2 and the control of cell physiology. *Seminars in cell & developmental biology* 16. 3–12 (2005).
  - [131] Costa-Mattioli, M., P. Walter: The integrated stress response: From mechanism to disease. *Science (New York, N.Y.)* 368(2020).
  - [132] Pavitt, G.D.: eIF2B, a mediator of general and gene-specific translational control. *Biochemical Society transactions* 33. 1487–1492 (2005).

- 
- [133] Kim, S.H., A.P. Forman, M.B. Mathews, et al.: Human breast cancer cells contain elevated levels and activity of the protein kinase, PKR. *Oncogene* 19. 3086–3094 (2000).
- [134] Clemens, M.J., A. Elia: The double-stranded RNA-dependent protein kinase PKR: structure and function. *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research* 17. 503–524 (1997).
- [135] Namer, L.S., F. Osman, Y. Banai, et al.: An Ancient Pseudoknot in TNF- $\alpha$  Pre-mRNA Activates PKR, Inducing eIF2 $\alpha$  Phosphorylation that Potently Enhances Splicing. *Cell reports* 20. 188–200 (2017).
- [136] Shi, Y., K.M. Vattam, R. Sood, et al.: Identification and characterization of pancreatic eukaryotic initiation factor 2 alpha-subunit kinase, PEK, involved in translational control. *Molecular and cellular biology* 18. 7499–7509 (1998).
- [137] Harding, H.P., Y. Zhang, D. Ron: Protein translation and folding are coupled by an endoplasmic-reticulum-resident kinase. *Nature* 397. 271–274 (1999).
- [138] Spilka, R., C. Ernst, A.K. Mehta, et al.: Eukaryotic translation initiation factors in cancer development and progression. *Cancer letters* 340. 9–21 (2013).
- [139] Sattlegger, E., A.G. Hinnebusch: Separate domains in GCN1 for binding protein kinase GCN2 and ribosomes are required for GCN2 activation in amino acid-starved cells. *The EMBO journal* 19. 6622–6633 (2000).
- [140] Pavitt, G.D., K.V. Ramaiah, S.R. Kimball, et al.: eIF2 independently binds two distinct eIF2B subcomplexes that catalyze and regulate guanine-nucleotide exchange. *Genes & development* 12. 514–526 (1998).
- [141] Wortham, N.C., C.G. Proud: eIF2B: recent structural and functional insights into a key regulator of translation. *Biochemical Society transactions* 43. 1234–1240 (2015).
- [142] Williams, D.D., N.T. Price, A.J. Loughlin, et al.: Characterization of the mammalian initiation factor eIF2B complex as a GDP dissociation stimulator protein. *The Journal of biological chemistry* 276. 24697–24703 (2001).
- [143] Wang, X., F.E. Paulin, L.E. Campbell, et al.: Eukaryotic initiation factor 2B: identification of multiple phosphorylation sites in the epsilon-subunit and their functions in vivo. *The EMBO journal* 20. 4349–4359 (2001).
- [144] Fogli, A., O. Boespflug-Tanguy: The large spectrum of eIF2B-related diseases. *Biochemical Society transactions* 34. 22–29 (2006).
- [145] Hermida, M.A., J. Dinesh Kumar, N.R. Leslie: GSK3 and its interactions with the PI3K/AKT/mTOR signalling network. *Advances in biological regulation* 65. 5–15 (2017).
- [146] Leegwater, P.A., G. Vermeulen, A.A. Könst, et al.: Subunits of the translation initiation factor eIF2B are mutant in leukoencephalopathy with vanishing white matter. *Nature genetics* 29. 383–388 (2001).
- [147] Fogli, A., R. Schiffmann, E. Bertini, et al.: The effect of genotype on the natural history of eIF2B-related leukodystrophies. *Neurology* 62. 1509–1517 (2004).
- [148] Li, W., X. Wang, van der Knaap, Marjo S., et al.: Mutations linked to leukoencephalopathy with vanishing white matter impair the function of the eukaryotic initiation factor 2B complex in diverse ways. *Molecular and cellular biology* 24. 3295–3306 (2004).
- [149] Natarajan, K., M.R. Meyer, B.M. Jackson, et al.: Transcriptional profiling shows that Gcn4p is a master regulator of gene expression during amino acid starvation in yeast. *Molecular and cellular biology* 21. 4347–4368 (2001).
- [150] Harding, H.P., Y. Zhang, H. Zeng, et al.: An Integrated Stress Response Regulates Amino Acid Metabolism and Resistance to Oxidative Stress. *Molecular cell* 11. 619–633 (2003).

- 
- [151] Donzé, O., R. Jagus, A.E. Koromilas, et al.: Abrogation of translation initiation factor eIF-2 phosphorylation causes malignant transformation of NIH 3T3 cells. *The EMBO journal* 14. 3828–3834 (1995).
- [152] Ali, M.U., M.S. Ur Rahman, Z. Jia, et al.: Eukaryotic translation initiation factors and cancer. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine* 39. 1010428317709805 (2017).
- [153] Perkins, D.J., G.N. Barber: Defects in translational regulation mediated by the alpha subunit of eukaryotic initiation factor 2 inhibit antiviral activity and facilitate the malignant transformation of human fibroblasts. *Molecular and cellular biology* 24. 2025–2040 (2004).
- [154] Guo, L., Y. Chi, J. Xue, et al.: Phosphorylated eIF2 $\alpha$  predicts disease-free survival in triple-negative breast cancer patients. *Scientific reports* 7. 44674 (2017).
- [155] Ren, W., Y. Li, X. Xia, et al.: Arginine inhibits the malignant transformation induced by interferon-gamma through the NF- $\kappa$ B-GCN2/eIF2 $\alpha$  signaling pathway in mammary epithelial cells in vitro and in vivo. *Experimental cell research* 368. 236–247 (2018).
- [156] Darini, C., N. Ghaddar, C. Chabot, et al.: An integrated stress response via PKR suppresses HER2+ cancers and improves trastuzumab therapy. *Nat Commun* 10. 2139 (2019).
- [157] Chen, Q., B. Yang, N. Nass, et al.: Impact of Eukaryotic Translation Initiation Factors on Breast Cancer: Still Much to Investigate. *Cancers* 12(2020).
- [158] Palaniappan, A., K. Ramar, S. Ramalingam: Computational Identification of Novel Stage-Specific Biomarkers in Colorectal Cancer Progression. *PLoS ONE* 11. e0156665 (2016).
- [159] Jiao, Y., Z. Fu, Y. Li, et al.: High EIF2B5 mRNA expression and its prognostic significance in liver cancer: a study based on the TCGA and GEO database. *Cancer management and research* 10. 6003–6014 (2018).
- [160] Goode, E.L., M.J. Maurer, T.A. Sellers, et al.: Inherited determinants of ovarian cancer survival. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 16. 995–1007 (2010).
- [161] Unterluggauer, J.J., K. Prochazka, P.V. Tomazic, et al.: Expression profile of translation initiation factor eIF2B5 in diffuse large B-cell lymphoma and its correlation to clinical outcome. *Blood Cancer Journal* 8. 79 (2018).
- [162] Ignatov, A., T. Ignatov, C. Weissenborn, et al.: G-protein-coupled estrogen receptor GPR30 and tamoxifen resistance in breast cancer. *Breast cancer research and treatment* 128. 457–466 (2011).
- [163] cBioPortal for Cancer Genomics: Breast Cancer (METABRIC, Nature 2012 & Nat Commun 2016(2020). Online: [https://www.cbioportal.org/study/clinicalData?id=brca\\_metabric](https://www.cbioportal.org/study/clinicalData?id=brca_metabric)(Stand: 07.12.2020).
- [164] Pereira, B., S.-F. Chin, O.M. Rueda, et al.: The somatic mutation profiles of 2,433 breast cancers refines their genomic and transcriptomic landscapes. *Nat Commun* 7. 11479 (2016).
- [165] Cerami, E., J. Gao, U. Dogrusoz, et al.: The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer discovery* 2. 401–404 (2012).
- [166] Györfy, B., A. Lanczky, A.C. Eklund, et al.: An online survival analysis tool to rapidly assess the effect of 22,277 genes on breast cancer prognosis using microarray data of 1,809 patients. *Breast cancer research and treatment* 123. 725–731 (2010).
- [167] Lanczky, A., B. Györfy: Web-Based Survival Analysis Tool Tailored for Medical Research (KMplot): Development and Implementation. *Journal of medical Internet research* 23. e27633 (2021).
- [168] Roche Pharma AG: Kadcyla, INN-trastuzumab emtansine.
- [169] Ventana Medical Systems, I.: ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) 2014
- [170] Santa Cruz Biotechnology, Inc.: eIF2B $\epsilon$ , 1 pp.

- 
- [171] Ventana Medical Systems, I.: ultraView Universal DABDetectioUn Kit 2011
  - [172] Wolff, A.C., M.E.H. Hammond, D.G. Hicks, et al.: Reply to E.A. Rakha et al. *Journal of Clinical Oncology* 33. 1302–1304 (2015).
  - [173] Petrelli, F., G. Viale, M. Cabiddu, et al.: Prognostic value of different cut-off levels of Ki-67 in breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 64,196 patients. *Breast cancer research and treatment* 153. 477–491 (2015).
  - [174] Tashima, R., R. Nishimura, T. Osako, et al.: Evaluation of an Optimal Cut-Off Point for the Ki-67 Index as a Prognostic Factor in Primary Breast Cancer: A Retrospective Study. *PLoS ONE* 10. e0119565 (2015).
  - [175] Symmans, W.F., F. Peintinger, C. Hatzis, et al.: Measurement of residual breast cancer burden to predict survival after neoadjuvant chemotherapy. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 25. 4414–4422 (2007).
  - [176] Robert Koch-Institut: Krebs in Deutschland für 2017/2018.
  - [177] Huang, H.J., P. Neven, M. Drijkoningen, et al.: Association between tumour characteristics and HER-2/neu by immunohistochemistry in 1362 women with primary operable breast cancer. *Journal of clinical pathology* 58. 611–616 (2005).
  - [178] Anderson, N.M., M.C. Simon: The tumor microenvironment. *Current biology : CB* 30. R921–R925 (2020).
  - [179] Sidrauski, C., D. Acosta-Alvear, A. Khoutorsky, et al.: Pharmacological brake-release of mRNA translation enhances cognitive memory. *eLife* 2. e00498 (2013).

---

## **Danksagung**

Die Danksagung ist in der Version aus Datenschutzgründen nicht enthalten.

---

## **Ehrenerklärung**

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

### **eIF2B5 als möglicher Tumormarker des Mammakarzinoms**

am Institut für Pathologie der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

mit Unterstützung durch Prof. Johannes Haybäck und PD. Dr. Norbert Naß

ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Bei der Abfassung der Dissertation sind Rechte Dritter nicht verletzt worden.

Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Ich übertrage der Medizinischen Fakultät das Recht, weitere Kopien meiner Dissertation herzustellen und zu vertreiben.

Wadgassen, den 10.09.10.2025

---

Moritz Kirchhoff



---

## **Erklärung zur strafrechtlichen Verurteilung**

Ich erkläre hiermit, nicht wegen einer Straftat verurteilt worden zu sein, die Wissenschaftsbezug hat.

Wadgassen, den 109.10.2025

---

Moritz Kirchhoff

---

## Lebenslauf

Der Lebenslauf ist in der Version aus Datenschutzgründen nicht enthalten.

---

Der Lebenslauf ist in der Version aus Datenschutzgründen nicht enthalten.

## 6. Anlagen:

### 6.1. Tabellen und Abbildungen zu Kapitel 1 Einleitung:

UICC- Stadium	I		Erklärung		N	Erklärung		M	Erklärung	
0	Tis	Carcinoma in situ (DCIS, LCIS, M. Paget*)	N0	keine Lymphknotenmetastasen		M0	keine Fernmetastasen			
I	A	T1	Tumorgroße ≤ 2 cm		N0	keine Lymphknotenmetastasen		M0	keine Fernmetastasen	
	B	T0** - T1	s. oben		N1mi	Mikrometastasen beweglich axillärer Lymphknoten des Levels I – III		M0	keine Fernmetastasen	
II	A	T0 – T1	s. oben		N1	Befall beweglicher ipsilateraler axillärer Lymphknoten des Levels I und II		M0	keine Fernmetastasen	
		T2	Tumorgroße > 2 cm und ≤ 5 cm		N0	keine Lymphknotenmetastasen		M0	keine Fernmetastasen	
	B	T2	Tumorgroße > 2 cm und ≤ 5 cm		N1	Befall beweglicher ipsilateraler axillärer Lymphknoten des Levels I und II		M0	keine Fernmetastasen	
		T3	Tumorgroße > 5 cm		N0	keine Lymphknotenmetastasen		M0	keine Fernmetastasen	
III	A	T0 – T2	s. oben		N2	Befall ipsilateraler fixierter axillärer Lymphknoten des Levels I – II oder klinisch diagnostizierter isolierter Befall ipsilateraler LK der A. mammaria interna		M0	keine Fernmetastasen	
		T3	Tumorgroße > 5 cm		N1 – N2	s. oben		M0	keine Fernmetastasen	
	B	T4	Tumor jeder Größe mit Infiltration der Haut oder Brustwand		N0 – N2	s. oben		M0	keine Fernmetastasen	
		C	T0 – T4	s. oben		N3	Befall ipsilateraler supra- oder infraklavikulärer Lymphknoten (Level III) mit oder ohne gleichzeitigen Befall von axillären und A. mammaria-interna-Lymphknoten		M0	keine Fernmetastasen
IV	T0 – T4	s. oben		N0 – N3	s. oben		M1	Fernmetastasen		

\* DCIS: Duktales Carcinoma in situ; LCIS: Lobuläres Carcinoma in situ; M. Paget der Mamille

\*\* TO: kein Anhalt für Primärtumor

Tabelle 6.1.1: TNM-Klassifikation und UICC-Stadieneinteilung des Mammakarzinoms anhand der 8. Auflage der UICC TNM Klassifikation [27]

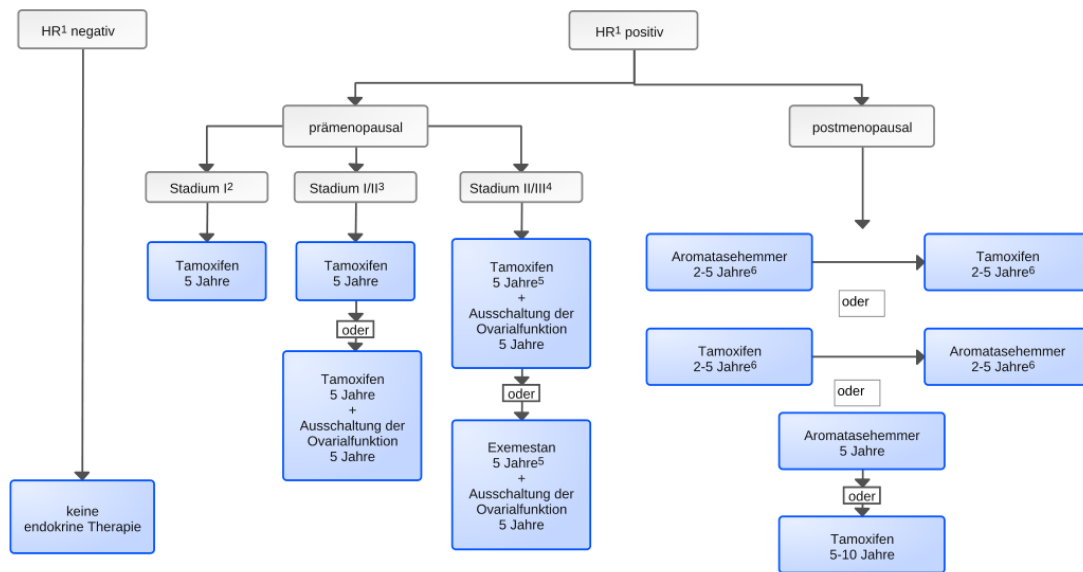
The flowchart outlines the management of breast cancer based on its extent and molecular markers. It is divided into four main categories: locally limited (Stadium I, IIA), locally advanced (Stadium IIB, IIIA/B, inflammatory), and distant metastatic.

- lokal begrenzt, Stadium I, IIA:**
  - BET1 möglich:** Operation BET1+ SNLE2 → und ggf. Axilla-Dissektion3 → und ggf. adjuvante medikamentöse Therapie → und adjuvante Bestrahlung.
  - BET1 nicht möglich:**
    - cN0:** primäre (neoadjuvante) medikamentöse Therapie → gefolgt von Operation BET1 → und ggf. Axilla-Dissektion3 → und ggf. adjuvante medikamentöse Therapie → und adjuvante Bestrahlung.
    - cN+:** SNLE2 → primäre (neoadjuvante) medikamentöse Therapie → gefolgt von Operation BET1 oder Mastektomie → und ggf. Axilla-Dissektion → und ggf. adjuvante medikamentöse Therapie → und adjuvante Bestrahlung.
- lokal fortgeschritten, Stadium IIB, IIIA/B, inflammatorisch:**
  - cN0:** SNLE2 → primäre (neoadjuvante) medikamentöse Therapie → gefolgt von Operation BET1 oder Mastektomie → und ggf. Axilla-Dissektion → und ggf. adjuvante medikamentöse Therapie → und adjuvante Bestrahlung.
  - cN+:** SNLE2 → primäre (neoadjuvante) medikamentöse Therapie → gefolgt von Operation BET1 oder Mastektomie → und ggf. Axilla-Dissektion → und ggf. adjuvante medikamentöse Therapie → und adjuvante Bestrahlung.
- fern metastasiert:**
  - systemische medikamentöse Therapie1 → und ggf. weitere lokale Therapiemaßnahmen → und / oder BSC4.

■ kurative Therapie; ■ palliative Therapie;  
<sup>1</sup>BET - Brusterhaltende Therapie;  
<sup>2</sup>SNLE - Wächterlymphknotenbiopsie (Sentinel Node Technik);  
<sup>3</sup>Eine Axilladisektion ist in dieser Indikation nur selten erforderlich;  
<sup>4</sup>BSC - Best Supportive Care

90

## Algorithmus für die adjuvante endokrine Systemtherapie



Legende:

<sup>1</sup>HR – Hormonrezeptor;

<sup>2</sup>Niedrigrisiko ohne Indikation für (neo)adjuvante Chemotherapie;

<sup>3</sup>erhöhtes Rezidivrisiko, bei dem auch eine (neo)adjuvante Chemotherapie erwogen wird;

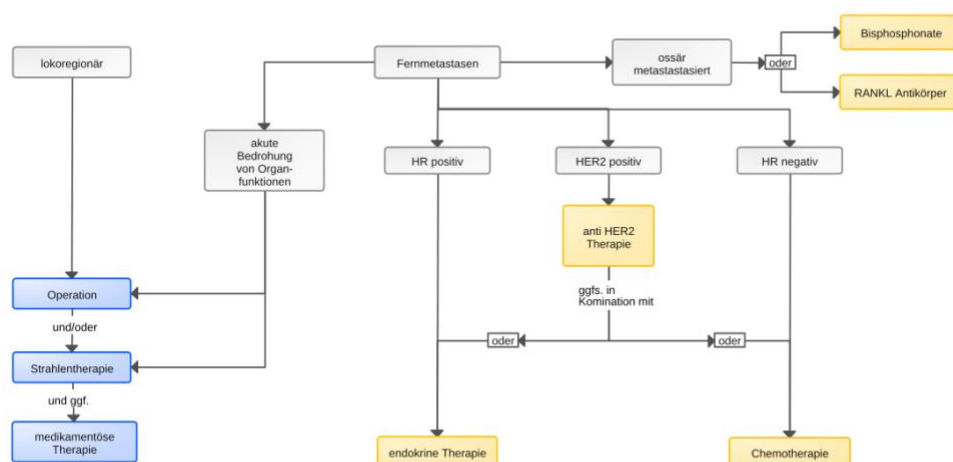
<sup>4</sup>Hochrisiko mit Indikation für (neo)adjuvante Chemotherapie;

<sup>5</sup>Tamoxifen über 10 Jahre nach individueller Risikoabschätzung und Verträglichkeit;

<sup>6</sup>sequenzielle Therapie

Abbildung 6.1.2: Algorithmus für die adjuvante endokrine Systemtherapie nach Onkopedia [43]

## Algorithmus für die Therapie im Rezidiv und bei Fernmetastasierung



Legende:

<sup>1</sup>HR – Hormonrezeptor;

<sup>2</sup>HER2 – Human Epidermal growth factor Receptor; HER2-positiv – HER2-Überexpression / HER2-Genamplifikation

Abbildung 6.1.3.: Algorithmus für die Therapie im Rezidiv und bei Fernmetastasierung nach Onkopedia [43]

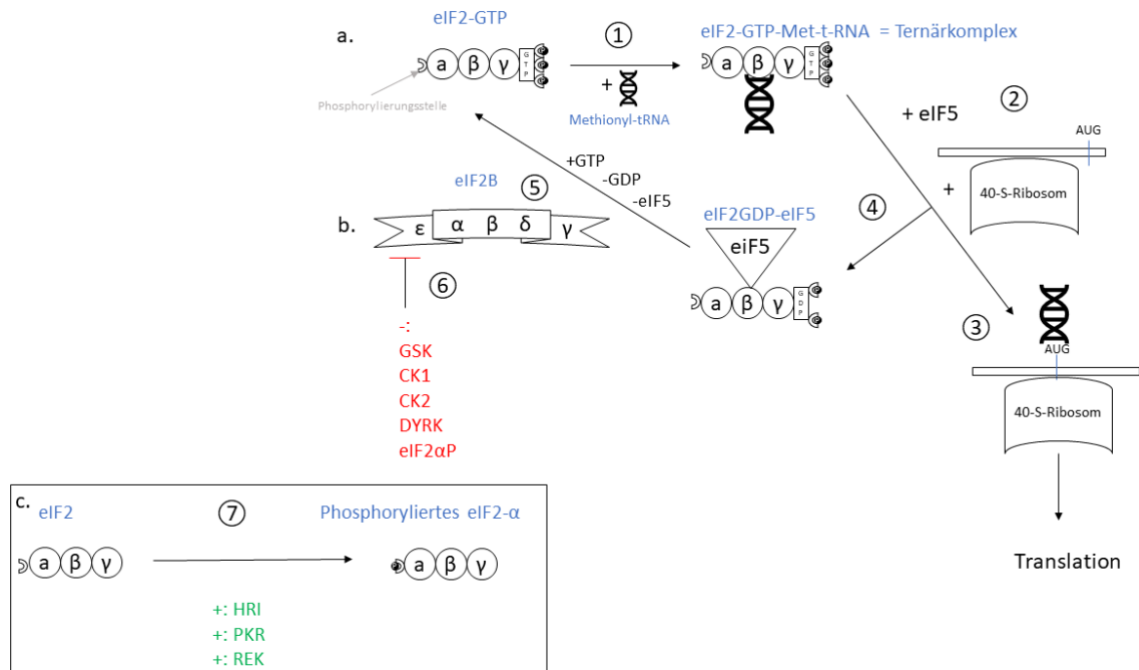


Abbildung 6.1.4.: Schematische Darstellung der Struktur und Funktion von eIF2 sowie Regulation durch eIF2B. Kombiniert und modifiziert aus Pavitt [132] und Wortham et. al. [141]

#### Legende:

**Blau:** Name des Komplexes / der Struktur

**Rot:** Hemmung des biochemischen Vorgangs

**Grün:** Aktivierung des biochemischen Vorgangs

#### a. Schematische Darstellung der Struktur und Funktion von eIF2 sowie Regulation durch eIF2B:

① eIF2-GTP bildet zusammen mit Methionyl-tRNA den Ternärkomplex

② Der 48S-Initiationskomplex bestehend aus dem Ternärkomplex und eIF1A, eIF3 und eIF4 (werden aus Übersichtsgründen nicht dargestellt) sucht in Anwesenheit von eIF5 auf der mRNA nach dem Startcodon AUG.

③ Die Methionyl-tRNA bindet an die mRNA mit dem 40S-Ribosom und es kommt zur Translation. Bei dieser Bindung wird ④ eIF2-GDP mit eIF5 vom Komplex dissoziiert und liegt nun im inaktiven Zustand vor.

⑤ Damit das G-Protein wieder in den aktiven Zustand gebracht werden kann, wird mithilfe des Nukleotid-Austauschfaktors eIF2B GDP und eIF5 freigesetzt und GTP kann an eIF2 binden.

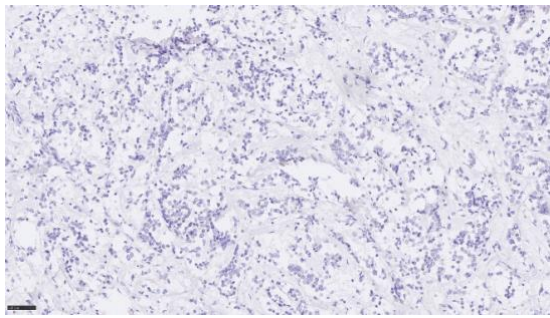
#### b. Schematische Darstellung der Struktur und Regulation von eIF2B:

⑥ Der Nukleotid-Austauschfaktor eIF2B wird von den Proteinkinasen GSK, CK1, CK2, DYRK und von phosphoryliertem eIF2α an der ε-Untereinheit gehemmt.

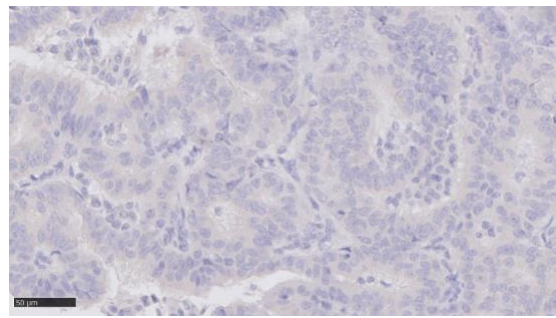
#### c. Schematische Darstellung der Phosphorylierung von eIF2-α und dessen Enzyme:

⑦ eIF2 wird durch die Proteinkinasen HRI, PKR und PEK an der α-Untereinheit phosphoryliert. Phosphoryliertes eIF2-α hemmt eIF2B.

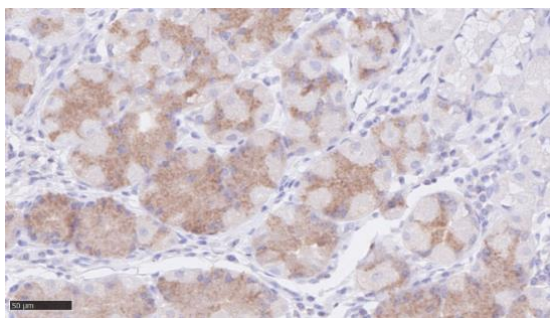
## 6.2. Abbildungen zu Kapitel 2 Material und Methoden:



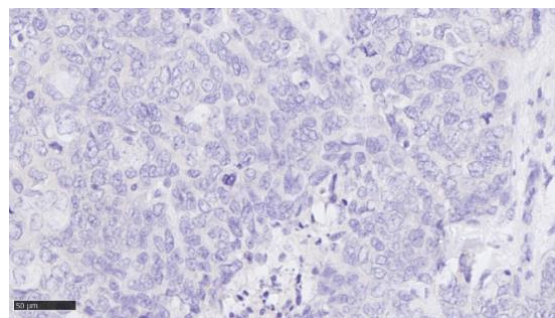
a. Keine Anfärbung (Färbeintensität 0) in der Kohorte Magdeburg



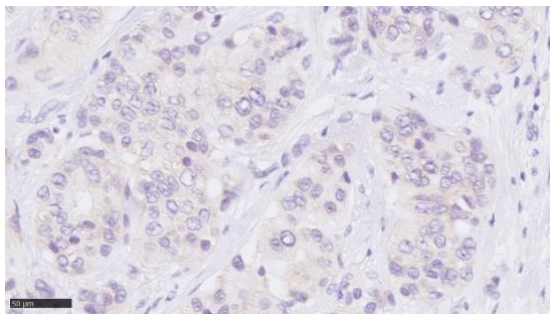
b. Positive Anfärbung (Färbeintensität 1) in der Kohorte Magdeburg



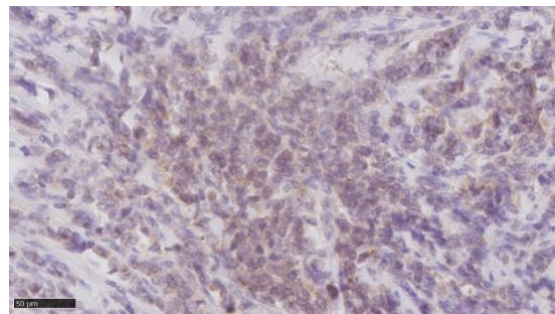
c. Positivkontrolle Darmgewebe



d. Keine Anfärbung (Färbeintensität 0) in der Kohorte Graz



e. Schwache Positivität (Färbeintensität 1) in der Kohorte Graz



f. Mäßige Positivität (Färbeintensität 2) in der Kohorte Graz

Abbildung 6.2.1.: Beispiele für die Färbeintensität der eIF2B5-Expression der beiden immunhistochemischen Kohorten und Positivkontrolle



### 6.3. Tabellen und Abbildungen zu Kapitel 3 Ergebnisse:

Signifikanz im Paarvergleich	Färbeintensität Brustgewebe	Färbeintensität Tumorgewebe	Färbeintensität duktales Carcinoma-in-situ-Gewebe (DCIS)
<b>Kohorte Magdeburg</b>			
Färbeintensität Brustgewebe		p = 0,655 (n=118)	p = 0,020 (n=55)*
Färbeintensität Tumorgewebe	p = 0,655 (n=118)		0,102 (n=50)
Färbeintensität Carcinoma-in-situ-Gewebe	p = 0,020 (n = 55)	p = 0,102 (n=50)	
<b>Kohorte Graz</b>			
Färbeintensität Brustgewebe		p = 0,480 (n=29)	p = 0,317 (n=9)
Färbeintensität Tumorgewebe	p = 0,480 (n=29)		p = 1 (n=8)
Färbeintensität Carcinoma-in-situ-Gewebe	p = 0,317 (n=9)	p = 1 (n=8)	

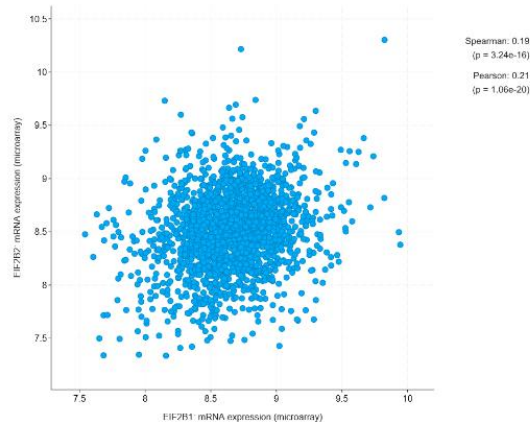
\* signifikant bei Signifikanzniveau: p = 0,05

Tabelle 6.6.1: Vergleich der histochemischen Färbeintensität für eIF2B5 in Brustgewebe, Tumorgewebe und DCIS-Gewebe. Die statistische Signifikanz wurde mittels gepaartem Wilcoxon Test bestimmt.

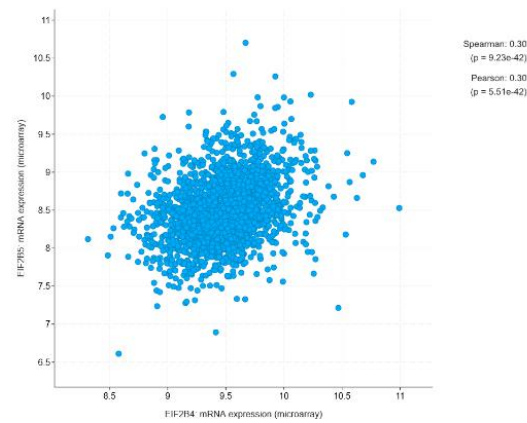
		EIF2B1: mRNA expression (microarray)	EIF2B2: mRNA expression (microarray)	EIF2B4: mRNA expression (microarray)	EIF2B5: mRNA expression (microarray)
EIF2B1: mRNA expression (microarray)	Korrelation nach Pearson	1	<b>0,212**</b>	-0,082**	-0,066**
	Signifikanz (2-seitig)		< 0,001	< 0,001	0,004
	N	1904	1904	1904	1904
EIF2B2: mRNA expression (microarray)	Korrelation nach Pearson	<b>0,212**</b>	1	-0,083**	<b>-0,263**</b>
	Signifikanz (2-seitig)	< 0,001		< 0,001	< 0,001
	N	1904	1904	1904	1904
EIF2B4: mRNA expression (microarray)	Korrelation nach Pearson	-0,082**	-0,083**	1	<b>0,304**</b>
	Signifikanz (2-seitig)	< 0,001	< 0,001		< 0,001
	N	1904	1904	1904	1904
EIF2B5: mRNA expression (microarray)	Korrelation nach Pearson	-0,066**	<b>-0,263**</b>	<b>0,304**</b>	1
	Signifikanz (2-seitig)	0,004	< 0,001	< 0,001	
	N	1904	1904	1904	1904

\*\* : signifikant bei Signifikanzniveau  $p = 0,01$ .

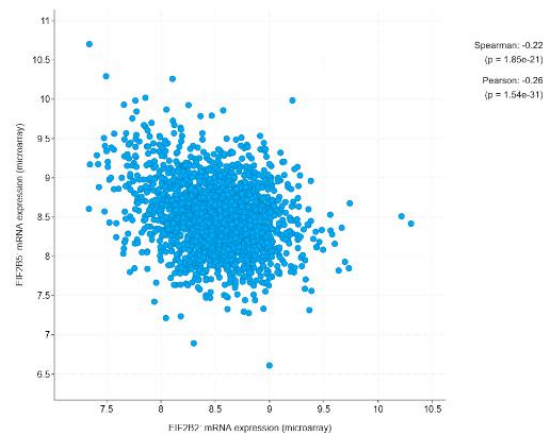
Tabelle 6.3.2: Pearson-Korrelation der mRNA-Expression einzelner eIF2B-Subunits im invasiven Mamma-Karzinom basierend auf der Metabric Kohorte [163]. Fett markiert sind alle signifikanten Korrelationen über dem Schwellenwert 0,2, die einen positiven Zusammenhang anzeigen und alle Korrelationen unter dem Schwellenwert -0,2, die einen negativen Zusammenhang anzeigen.



a. Korrelation der mRNA-Expression zwischen eIF2B1 und eIF2B2



b. Korrelation der mRNA-Expression zwischen eIF2B4 und eIF2B5



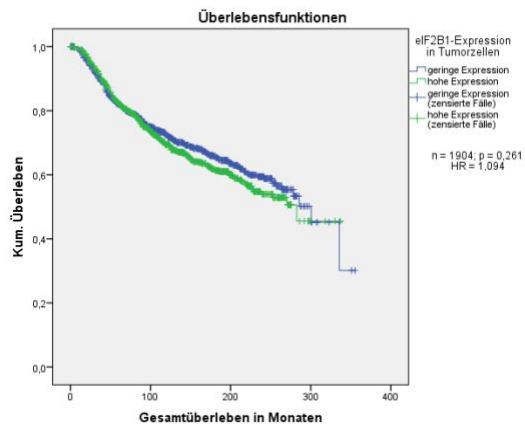
c. Korrelation der mRNA-Expression zwischen eIF2B2 und eIF2B5

Abbildung 6.3.1: Punktdiagramme der Korrelationen der mRNA-Expression zwischen den einzelnen eIF-Subunits der Metabric-Kohorte (heruntergeladen von [www. https://www.cbiportal.org](https://www.cbiportal.org) [163])

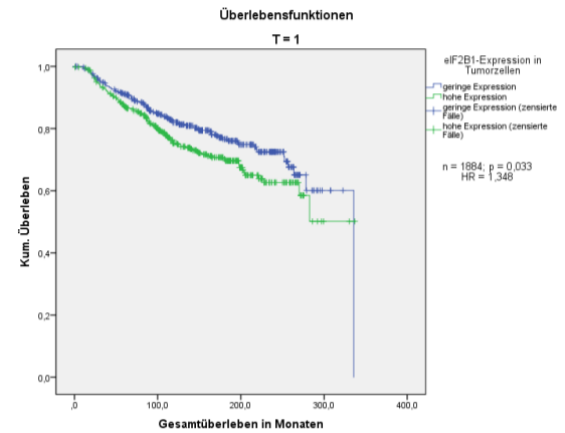
Parameter	Expressionsgrad eIF2B1	p	Mittleres Gesamtüberleben				Medianes Gesamtüberleben				HR
			Mittelwert	SD	95%- KI		Median	SD	95%- KI		
Gesamtüberleben	< Median > Median	0,261	234,90 222,60	6,30 5,60	222,60 211,60	247,20 233,50	300,70 282,60	17,60	266,30 335,10		1,094
T-Stadium											
1	< Median > Median	0,033	262,63 242,55	6,94 8,17	249,03 226,54	276,23 258,56	335,73				1,348
	2		< Median > Median	0,569	205,28 203,57	9,20 6,54	187,26 190,76	223,31 216,38	223,83 228,77	18,26 188,04	
3		< Median > Median	0,899		145,66 130,24	16,90 14,19	112,55 102,42	178,77 158,05	126,67 111,10	32,59 23,69	62,79 64,68
	N-Stadium										
negativ	< Median > Median	0,493	265,93 253,81	7,18 7,27	215,86 239,57	280,00 268,06	335,73	51,12	235,55	435,92	1,094
	positiv		< Median > Median	0,556	194,08 182,12	9,62 7,11	175,21 169,18	212,94 196,06	216,73 175,97	23,04 20,55	
Östrogenrezeptor											
negativ	< Median > Median	0,588	198,72 165,59	9,26 8,82	180,57 148,30	216,87 182,88	227,83				1,083
	positiv		< Median > Median	0,138	242,90 230,37	7,14 6,02	228,90 218,58	256,90 242,17	285,70 282,57	15,94 254,46	
Progesteronrezeptor											
negativ	< Median > Median	0,510	215,46 183,39	7,12 6,27	201,50 171,11	229,42 195,67	335,73 228,77	0,00 18,93	191,67	265,86	1,074
	positiv		< Median > Median	0,212	250,58 242,41	8,54 6,27	233,83 230,12	267,32 254,70	285,70	15,26	
HER2-neu-Status											
negativ	< Median > Median	0,382	240,86 230,71	6,72 5,81	227,70 219,32	254,03 242,10	300,70 282,57	18,57	264,30	337,10	1,081
	positiv		< Median > Median	0,019	191,17 126,84	12,23 11,28	167,20 104,73	215,14 148,95	196,87 90,80	12,93 65,45	
TNBC											
nicht triple negativ	< Median > Median	0,145	237,96 224,75	6,75 5,89	224,74 213,20	251,18 236,31	285,70 282,57	16,06	254,21	317,19	1,138
	triple negativ		< Median > Median	0,758	197,30 181,14	10,89 10,17	175,95 161,21	218,65 201,06			
Erhaltene Chemotherapie											
negativ	< Median > Median	0,054	249,42 231,88	6,87 6,05	235,96 220,03	262,88 243,73	300,70 282,57	16,19	268,96	332,44	1,204
	positiv		< Median > Median	0,631	178,66 159,47	10,15 8,79	158,76 142,24	198,55 176,71	163,10 144,97	49,71 27,78	
Erhaltene Radiotherapie											
negativ	< Median > Median	0,094	237,94 219,07	7,50 8,42	223,23 202,56	252,64 235,58	335,73 282,57	0,00 41,57	201,09	364,05	1,238
	positiv		< Median > Median	0,933	231,71 217,01	8,08 5,98	215,87 205,29	247,54 228,73	285,70 270,13	18,19	
Erhaltene Hormontherapie											
negativ	< Median > Median	0,790	234,23 230,80	8,07 8,53	218,41 214,08	250,04 247,52	335,73	51,14	235,49	435,98	0,966
	positiv		< Median > Median	0,086	224,57 207,15	9,96 6,38	205,04 194,64	244,10 219,65	278,37 239,17	18,33 13,44	

\*\* : signifikant bei Signifikanzniveau p= 0,01

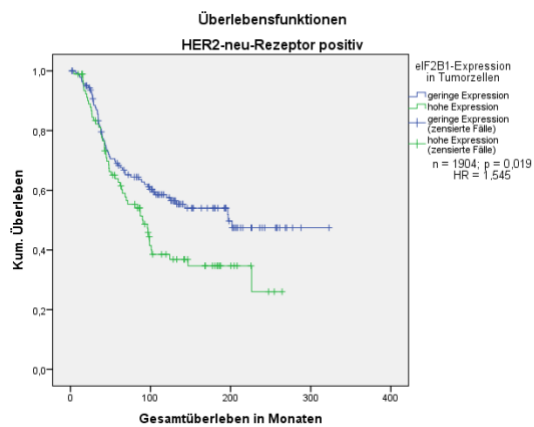
Tabelle 6.3.3: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der eIF2B1-mRNA-Expression und in Abhängigkeit klinisch-pathologischer Faktoren basierend auf der Metabric-Datenbank [163]



a.



b.



c.

Legende:

Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B1

a.beim Mammakarzinom

b.beim Mammakarzinom im TNM-Tumorstadium T1

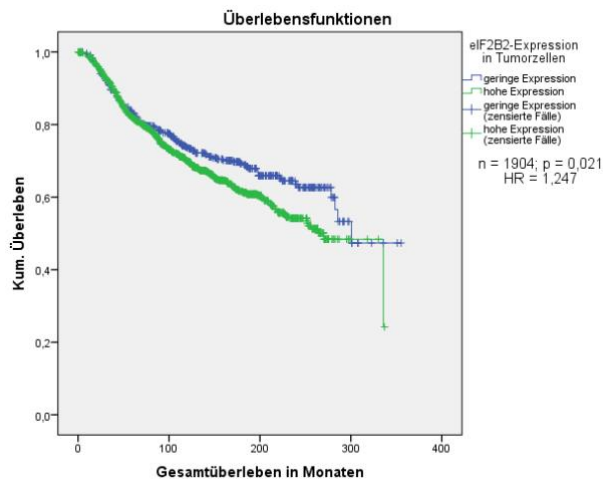
c.beim HER2-neu-positivem Mammakarzinom

Abbildung: 6.3.2: Überleben in Abhängigkeit der eIF2B1-mRNA-Expression der Metabric Kohorte [163], dargestellt als Kaplan-Meier Kurven

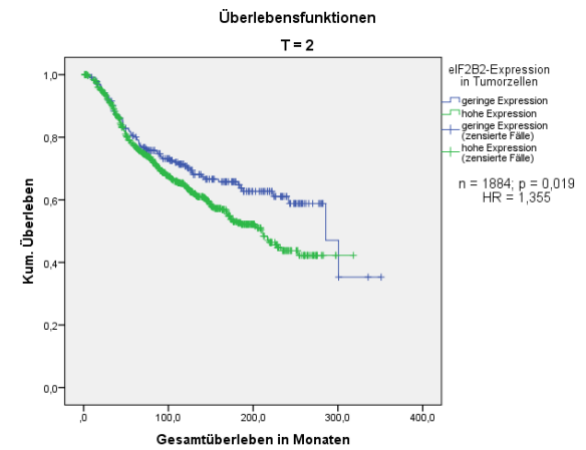
Parameter	Expressionsgrad eIF2B2	p	Mittleres Gesamtüberleben				Medianes Gesamtüberleben				HR
			Mittelwert	SD	95%- KI		Median	SD	95%- KI		
Gesamtüberleben	< 1. Quartil	0,021	246,85	7,88	231,40	262,29	300,70				1,247
	> 1. Quartil		222,88	4,26	214,53	231,22	270,13	10,49	249,58	290,69	
T-Stadium											
1	< 1. Quartil	0,276	253,02	8,46	236,45	269,60					1,193
	> 1. Quartil		250,47	6,27	238,18	262,76	335,73	46,82	243,96	427,51	
2	< 1. Quartil	0,019	229,04	11,97	205,58	252,49	285,70	27,88	231,06	340,34	1,355
	> 1. Quartil		194,27	5,44	183,60	204,94	210,97	14,23	183,08	238,85	
3	< 1. Quartil	0,383	127,79	22,04	84,60	170,97	102,50	34,18	35,51	169,49	0,762
	> 1. Quartil		143,91	13,33	117,79	170,03	126,67	41,66	45,01	208,32	
N-Stadium											
negativ	< 1. Quartil	0,129	277,75	8,68	260,75	294,76					1,258
	> 1. Quartil		254,20	5,36	243,69	264,71	335,73	51,11	235,56	435,91	
positiv	< 1. Quartil	0,244	202,50	12,20	178,60	226,40	278,37	55,53	169,53	387,21	1,154
	> 1. Quartil		182,78	5,81	171,38	194,17	178,73	17,97	143,51	213,96	
Östrogenrezeptor											
negativ	< 1. Quartil	0,220	208,41	12,24	184,42	232,41					1,220
	> 1. Quartil		174,39	7,70	159,29	189,48	204,20				
positiv	< 1. Quartil	0,013	256,19	9,10	238,35	274,04	300,70				1,339
	> 1. Quartil		230,96	4,72	221,72	240,21	270,13	9,46	251,59	288,68	
Progesteronrezeptor											
negativ	< 1. Quartil	0,017	220,30	8,81	203,03	237,57					1,341
	> 1. Quartil		200,79	6,68	187,69	213,89	227,83	21,21	186,26	269,40	
positiv	< 1. Quartil	0,105	262,03	10,92	240,63	283,44	300,70				1,278
	> 1. Quartil		240,29	5,38	229,74	250,83					
HER2-neu-Status											
negativ	< 1. Quartil	0,005**	256,59	8,45	240,02	273,15	300,70				1,351
	> 1. Quartil		229,10	4,47	220,33	237,87	270,13	8,71	253,06	287,20	
positiv	< 1. Quartil	0,955	173,07	17,54	138,70	207,45	105,60	43,55	20,25	190,95	0,988
	> 1. Quartil		151,69	9,01	134,04	169,34	124,57	35,62	54,74	194,39	
TNBC											
nicht triple negativ	< 1. Quartil	0,041	248,69	8,61	231,81	265,57	300,70				1,245
	> 1. Quartil		226,04	4,58	217,06	235,02	270,13	11,46	247,67	292,60	
triple negativ	< 1. Quartil	0,154	215,48	13,55	188,91	242,04					1,349
	> 1. Quartil		183,41	9,36	165,06	201,76					
Erhaltene Chemotherapie											
negativ	< 1. Quartil	0,027	259,00	8,55	242,24	275,75	300,70				1,127
	> 1. Quartil		234,58	4,69	225,40	243,77	335,73	49,20	239,31	432,16	
positiv	< 1. Quartil	0,535	189,39	14,79	160,40	218,39	241,60				1,368
	> 1. Quartil		158,72	7,24	144,52	172,92	144,67	25,96	93,79	195,55	
Erhaltene Radiotherapie											
negativ	< 1. Quartil	0,060	224,98	8,15	209,01	240,96					0,952
	> 1. Quartil		221,83	6,72	208,66	234,99	252,87	14,11	225,20	280,53	
positiv	< 1. Quartil	0,168	241,43	10,47	220,91	261,95	300,70	15,93	269,48	331,92	1,292
	> 1. Quartil		214,76	4,90	205,15	224,36	270,13				
Erhaltene Hormontherapie											
negativ	< 1. Quartil	0,268	247,33	10,07	227,58	267,07					1,124
	> 1. Quartil		227,15	6,59	214,23	240,07	335,73	55,31	227,32	444,14	
positiv	< 1. Quartil	0,028	236,54	12,15	212,72	260,36	285,70	28,70	229,45	341,95	1,149
	> 1. Quartil		208,52	5,28	198,17	218,87	232,73	11,85	209,51	255,96	

\*\* : signifikant bei Signifikanzniveau p= 0,01

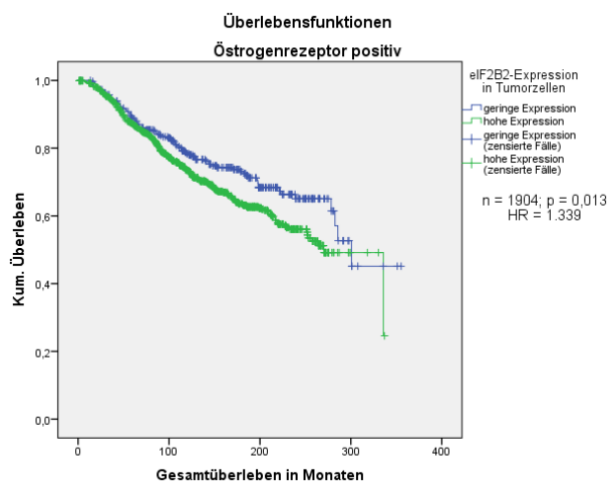
Tabelle 6.3.4: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der eIF2B2-mRNA-Expression und in Abhängigkeit klinisch-pathologischer Faktoren basierend auf der Metabric-Datenbank [163]



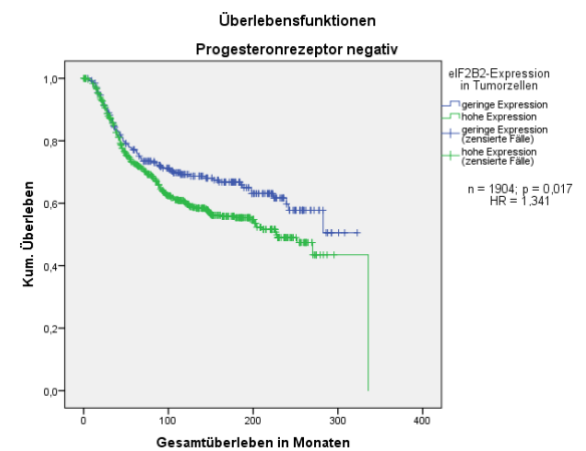
a.



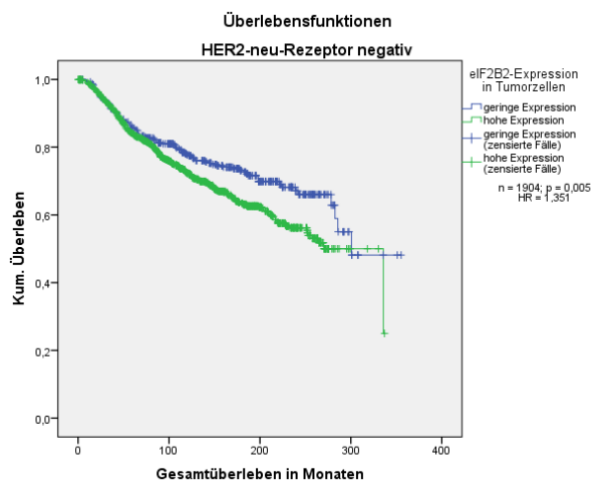
b.



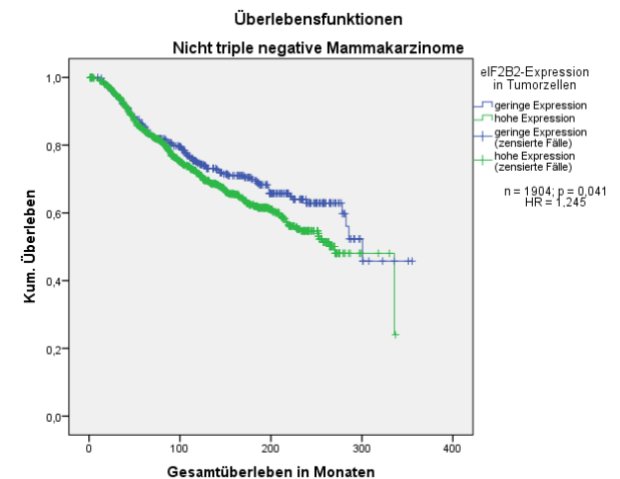
c.



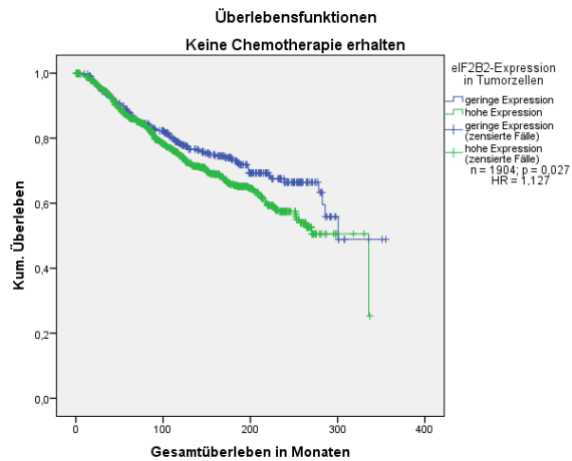
d.



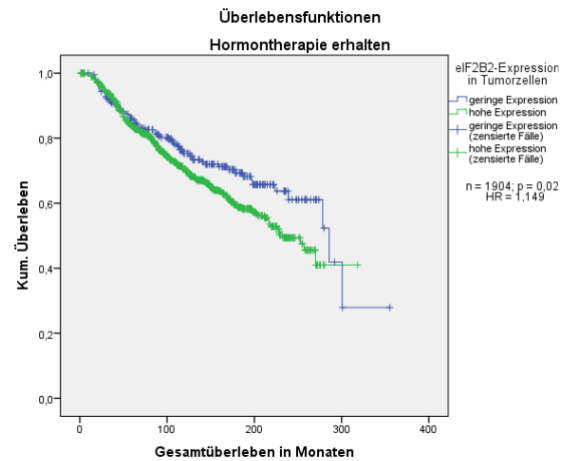
e.



f.



g.



h.

Legende:

Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B2

- beim Mammakarzinom
- beim Mammakarzinom im TNM-Stadium T2
- beim Östrogenrezeptor-positivem Mammakarzinom
- beim Progesteronrezeptor-negativem Mammakarzinom
- beim HER2-neu-negativem Mammakarzinom
- beim nicht triple-negativem Mammakarzinom
- bei nicht erhaltener Chemotherapie beim Mammakarzinom
- bei erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom

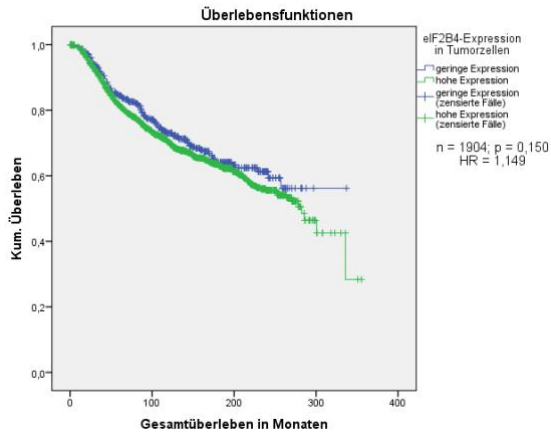
Abbildung 6.3.3: Überleben in Abhängigkeit der eIF2B2-mRNA-Expression der Metabric Kohorte [163], dargestellt als Kaplan-Meier Kurven



Parameter	Expressionsgrad eIF2B4	p	Mittleres Gesamtüberleben				Medianes Gesamtüberleben				HR
			Mittelwert	SD	95%- KI		Median	SD	95%- KI		
Gesamtüberleben	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,150	237,72 227,83	7,18 5,32	223,66 217,39	251,79 238,26	282,57	12,97	257,14	307,99	1,149
T-Stadium											
1	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,875	257,58 251,82	10,02 6,07	237,94 239,94	277,22 263,71	235,73				1,026
	2	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,069	198,18 204,98	7,73 7,36	183,02 190,57					
3		< 1. Quartil > 1. Quartil	0,669	120,90 146,24	20,59 13,68	80,56 119,43	161,25 173,05	111,10	19,13	73,61	148,59
	N-Stadium										
negativ	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,477	262,92 260,57	9,62 6,33	244,06 248,18	281,77 272,97	335,73	37,78	261,69	409,78	1,119
	positiv	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,142	184,81 188,03	7,95 7,68	169,23 172,98	200,38 203,07	241,60			
Östrogenrezeptor											
negativ	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,007**	205,59 182,51	11,14 8,28	183,74 166,29	227,43 198,74	201,83				1,63
	positiv	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,915	236,22 238,29	8,67 5,88	219,22 226,76					
Progesteronrezeptor											
negativ	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,005**	207,14 198,69	7,64 6,52	192,15 185,91	222,12 211,47	227,83	21,05	186,58	269,09	1,447
	positiv	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,441	235,82 250,66	11,14 6,80	213,98 237,33	257,66 263,98	256,87			
HER2-neu-Status											
negativ	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,613	239,60 236,50	7,66 5,65	224,59 225,43	254,60 247,57	285,70	12,81	260,60	310,80	1,054
	positiv	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,095	188,40 164,49	18,41 10,74	152,32 143,44					
TNBC											
nicht triple negativ	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,460	235,92 231,54	8,32 5,63	219,61 220,49	252,23 242,58	282,57	13,32	256,46	308,67	1,083
	triple negativ	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,048	206,61 186,98	11,84 9,86	183,41 167,66					
Erhaltene Chemotherapie											
negativ	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,310	248,71 240,13	8,24 5,74	232,55 228,86	264,86 251,39	285,70	12,93	260,36	311,04	1,127
	positiv	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,062	178,40 173,11	11,38 8,75	156,10 155,96					
Erhaltene Radiotherapie											
negativ	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,750	230,46 228,20	11,45 6,45	208,01 215,56	252,90 240,85	282,57	8,49	265,93	299,21	0,952
	positiv	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,039	211,09 226,15	6,51 6,78	198,34 212,87					
Erhaltene Hormontherapie											
negativ	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,459	239,78 232,18	11,29 7,02	217,65 218,42	261,91 245,93	335,73	46,10	245,38	426,08	1,124
	Positiv	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,252	198,46 217,56	6,20 7,98	186,31 201,91					

\*\* : signifikant bei Signifikanzniveau p= 0,01

Tabelle 6.3.5: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der eIF2B4-mRNA-Expression und in Abhängigkeit klinisch-pathologischer Faktoren basierend auf der Metabric-Datenbank [163]

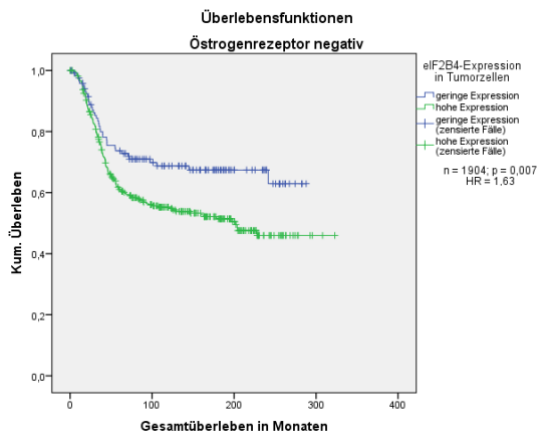


a.

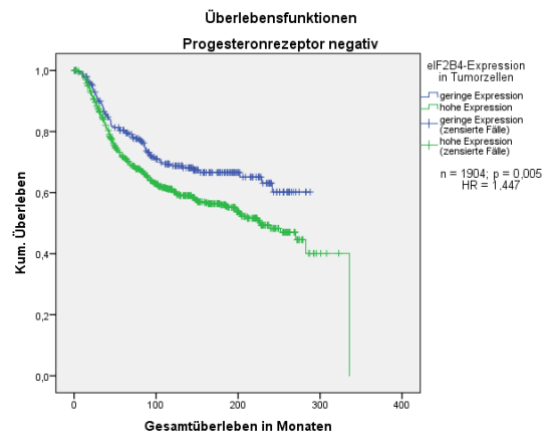
### Legende:

Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B4

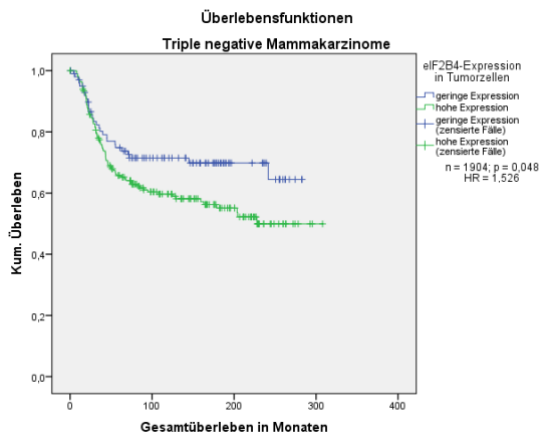
- a. beim Mammakarzinom
- b. beim Östrogenrezeptor-negativem Mammakarzinom
- c. beim Progesteronrezeptor-negativem Mammakarzinom
- d. beim triple-negativem Mammakarzinom
- e. bei erhaltener Radiotherapie beim Mammakarzinom



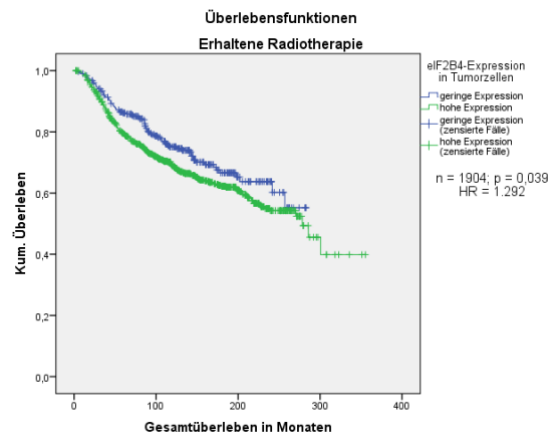
b.



c.



d.



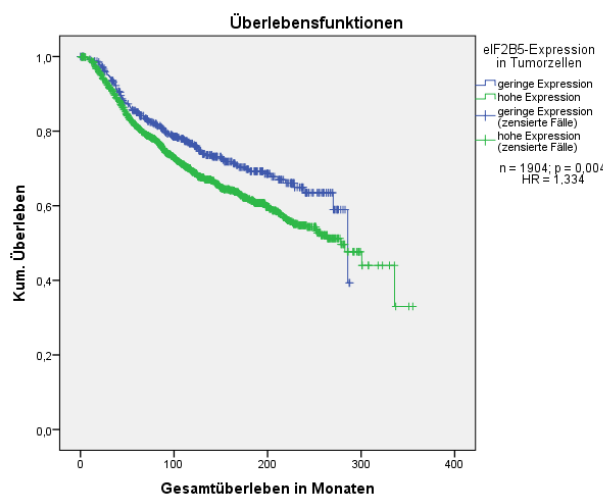
e.

Abbildung 6.3.4: Überleben in Abhängigkeit der eIF2B4-mRNA-Expression der Metabric Kohorte [163], dargestellt als Kaplan-Meier Kurven

Parameter	Expressionsgrad eIF2B5	p	Mittleres Gesamtüberleben				Medianes Gesamtüberleben				HR	
			Mittelwert	SD	95%- KI		Median	SD	95%- KI			
Gesamtüberleben	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,004**	217,7 226,9	5,2 5,1	207,5 217,0	228,0 236,9	285,7 278,4	13,0 17,5	260,2 244,1	311,2 312,6	1,334	
T-Stadium												
1	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,062	238,25 247,79	6,74 6,04	225,04 235,94	251,46 259,63	335,73	36,18	264,83	406,64	1,375	
	2		< 1. Quartil > 1. Quartil	0,020	203,80 206,59	7,98 7,14						188,15 192,59
3		< 1. Quartil > 1. Quartil	0,478		102,64 148,29	16,53 13,55	70,24 121,73	135,04 174,85	89,90	45,57	0,58	179,22
	N-Stadium											
negativ	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,032	241,36 258,54	6,34 6,05	228,93 246,68	253,79 270,40	335,73	44,04	249,42	422,05	1,434	
	positiv		< 1. Quartil > 1. Quartil	0,034	191,44 188,27	8,10 7,78						175,57 173,02
Östrogenrezeptor												
negativ	< 1. Quartil > 1. Quartil	1,000	175,1 195,0	11,3 8,4	152,9 178,5	197,2 211,5					1,000	
	positiv		< 1. Quartil > 1. Quartil	1,4*10 <sup>-5**</sup>	233,1 232,2	5,5 5,6						222,3 221,2
Progesteronrezeptor												
negativ	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,411	193,2 206,0	8,3 6,5	176,9 193,3	209,5 218,8	270,1 251,8		21,7	209,2	294,4	1,111
	positiv		< 1. Quartil > 1. Quartil	0,001**	238,4 242,5	6,2 6,5						
HER2-neu-Status												
negativ	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,004**	224,0 233,7	5,3 5,4	213,5 223,2	234,5 244,3	285,7 282,6	11,1 13,5	263,9 256,2	307,5 309,0	1,374	
	positiv		< 1. Quartil > 1. Quartil	0,560	166,5 171,0	17,1 10,9						133,0 149,7
TNBC												
nicht triple negativ	< 1. Quartil > 1. Quartil	1,4*10 <sup>-5**</sup>	226,2 227,8	5,6 5,4	215,3 217,2	237,1 238,4	285,7 278,4	13,2 18,5	259,9 242,1	311,5 314,6	1,539	
	triple negativ		< 1. Quartil > 1. Quartil	0,783	181,2 199,7	12,9 9,7						156,0 180,6
Erhaltene Chemotherapie												
negativ	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,001**	231,9 238,2	5,6 5,5	221,1 227,3	242,8 249,0	285,7 300,7	13,3 19,8	259,7 262,0	311,7 339,4	1,528	
	positiv		< 1. Quartil > 1. Quartil	0,337	172,7 173,2	11,5 9,0						150,2 155,5
Erhaltene Radiotherapie												
negativ	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,103	217,6 224,0	8,6 6,4	200,8 211,4	234,4 236,6	282,6	13,3	256,4	308,7	1,305	
	positiv		< 1. Quartil > 1. Quartil	0,015	218,0 226,9	6,5 6,6						205,2 214,0
Erhaltene Hormontherapie												
negativ	< 1. Quartil > 1. Quartil	0,435	197,5 237,4	9,5 6,8	179,0 224,1	216,1 250,8	335,7	51,6	234,6	436,9	0,889	
	positiv		< 1. Quartil > 1. Quartil	1,4*10 <sup>-5**</sup>	225,4 213,3	6,4 7,9						212,8 197,8

\*\* : signifikant bei Signifikanzniveau p= 0,01

Tabelle 6.3.6: Gesamtüberleben in Abhängigkeit der eIF2B5-mRNA-Expression und in Abhängigkeit klinisch-pathologischer Faktoren basierend auf der Metabric-Datenbank [163]

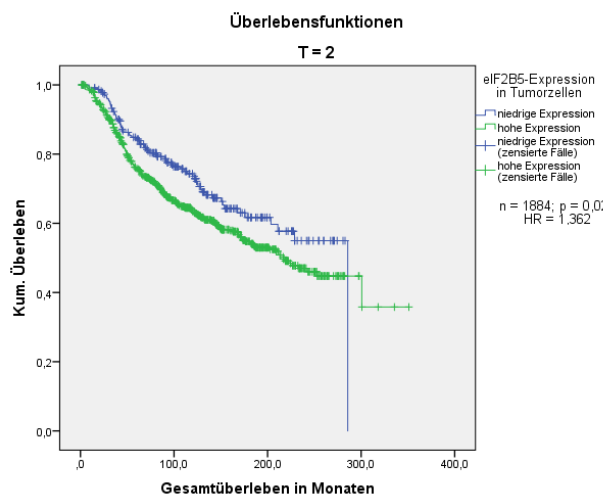


#### Legende:

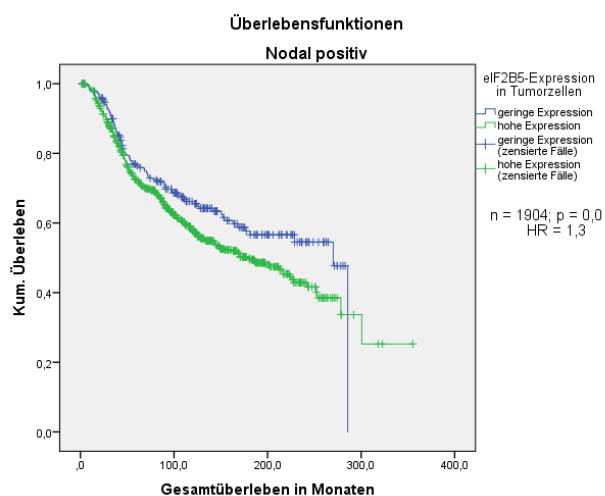
Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B5

- beim Mammakarzinom
- beim Mammakarzinom im Tumorstadium T2
- beim nodal-negativem Mammakarzinom
- beim nodal-positivem Mammakarzinom
- beim Östrogenrezeptor-positivem Mammakarzinom
- beim Progesteronrezeptor-positivem Mammakarzinom
- beim HER2-neu-negativem Mammakarzinom
- beim nicht triple-negativem Mammakarzinom
- bei nicht erhaltener Chemotherapie beim Mammakarzinom
- bei erhaltener Radiotherapie beim Mammakarzinom
- bei erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom

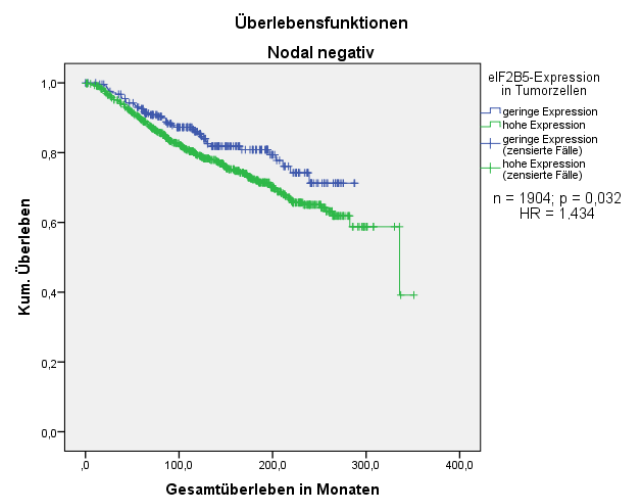
a.



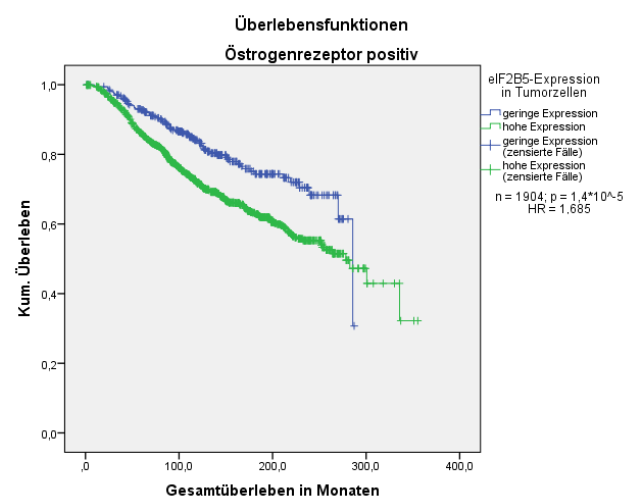
b.



d.



c.



e.

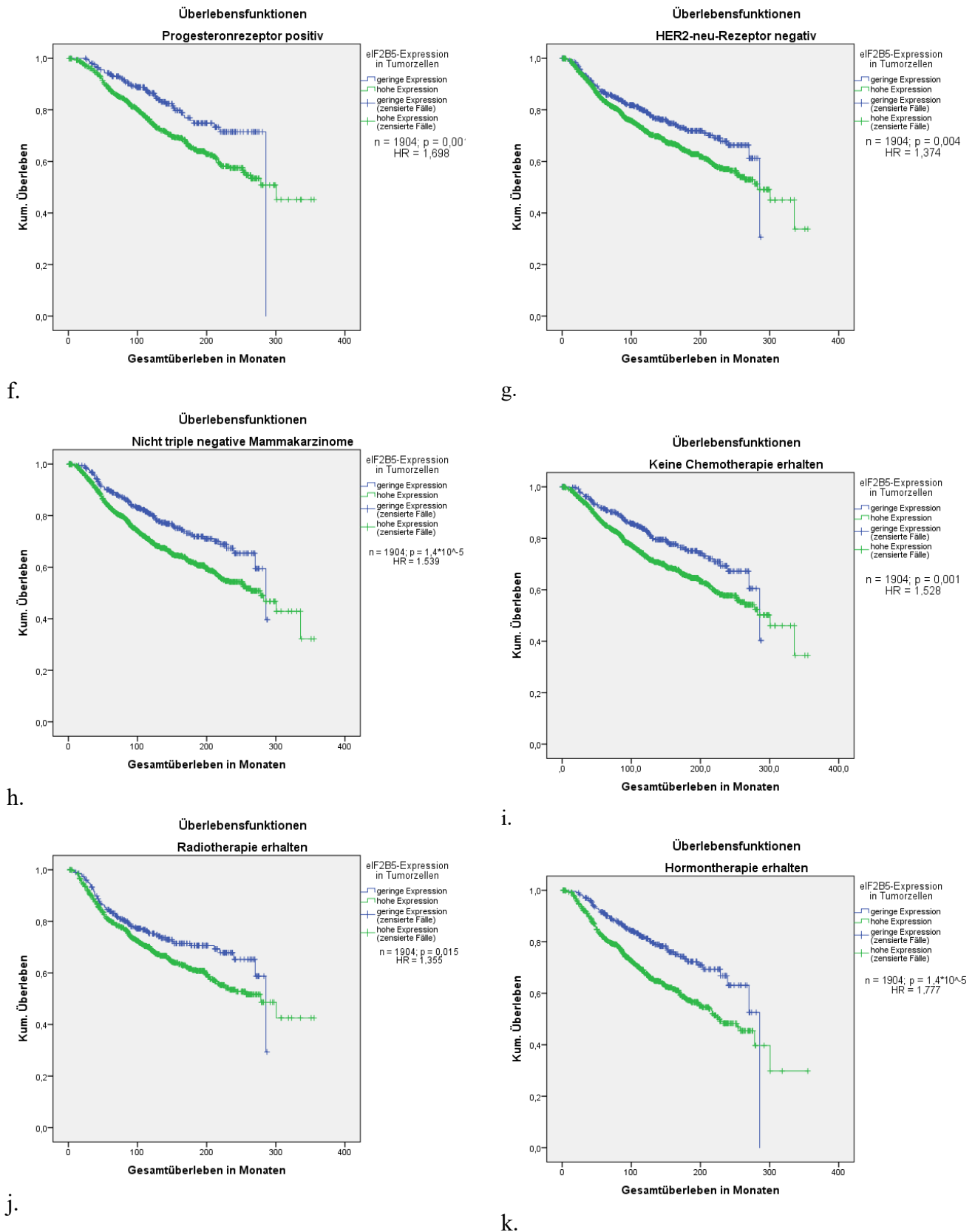
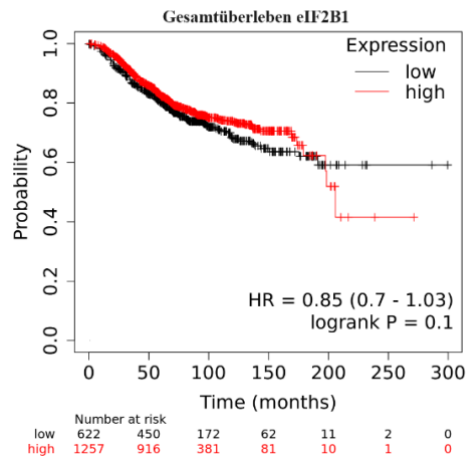


Abbildung 6.3.5: Überleben in Abhängigkeit der eIF2B5-mRNA-Expression der Metabric Kohorte [163], dargestellt als Kaplan-Meier Kurven

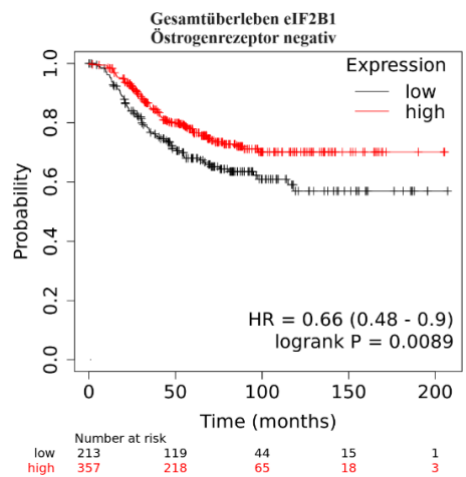
Parameter	Expressionsgrad eIF2B1	Medianes Gesamtüberleben				Medianes Krankheitsfreies Überleben			
		p	n	HR	Medianes Gesamtüberleben (Monaten)	p	n	HR	Medianes krankheitsfreies Überleben (Monaten)
Überleben	< Auto-Cutoff > Auto-Cutoff	0,102	1879	0,85	81,00 106,80	0,240	4929	1,06	51,00 46,80
<b>Östrogenrezeptor</b>									
negativ	< Auto-Cutoff > Auto-Cutoff	0,009**	570	0,66	40,68 68,40	0,006**	1161	0,77	18,00 27,00
positiv	< Auto-Cutoff > Auto-Cutoff	0,152	1309	1,19	125,92 106,80	0,005**	3768	1,18	69,70 54,00
<b>HER2-neu-Status</b>									
negativ	< Auto-Cutoff > Auto-Cutoff	0,158	1459	1,19	118,82 84,00	0,175	4047	1,08	60,00 51,00
positiv	< Auto-Cutoff > Auto-Cutoff	0,148	420	0,76	54,70 68,40	0,210	882	1,16	35,00 30,00
<b>Nodalstatus</b>									
Nodal negativ	< Auto-Cutoff > Auto-Cutoff	0,006**	726	1,45	173,72 89,03	0,155	2368	0,89	228,85 216,66
Nodal positiv	< Auto-Cutoff > Auto-Cutoff	0,040	452	0,70	35,27 55,52	0,004**	1656	0,78	32,03 45,00
<b>Erhaltene Chemotherapie</b>									
negativ	< Auto-Cutoff > Auto-Cutoff	0,192	549	1,27	151,04 99,00	0,250	1873	0,91	2285,85 216,66
positiv	< Auto-Cutoff > Auto-Cutoff	0,089	398	1,44	80,64 53,28	0,045	1372	1,26	58,00 39,84
<b>Erhaltene Hormontherapie</b>									
negativ	< Auto-Cutoff > Auto-Cutoff	0,209	683	0,80	97,48 143,74	0,439	1935	0,94	191,21 216,66
positiv	< Auto-Cutoff > Auto-Cutoff	0,006**	339	1,98	% %	0,002**	1496	1,48	113,50 77,54

\*\* : signifikant bei Signifikanzniveau p= 0,01

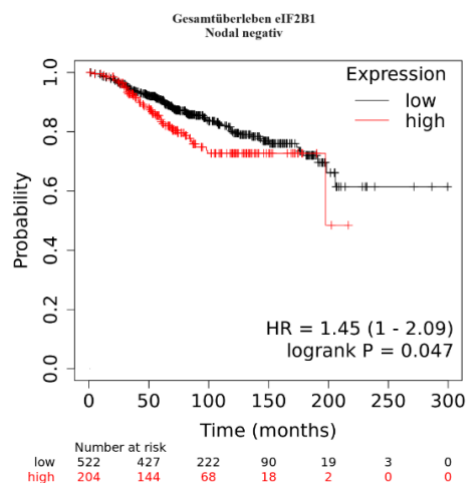
Tabelle 6.3.7: Überlebensdaten in Abhängigkeit der mRNA-Expressionen von eIF2B1 basierend der Datenbanken des KM-Plotters [166,167]



a.



b.

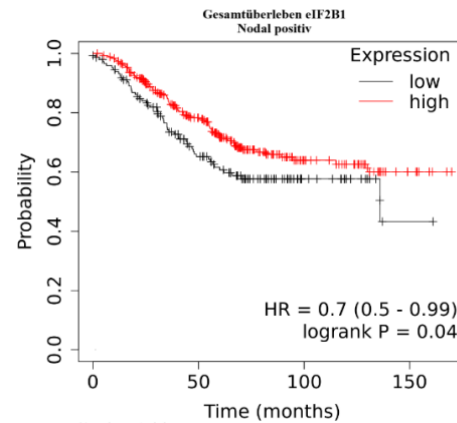


d.

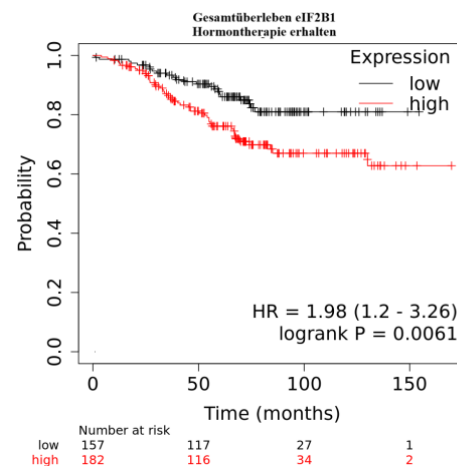
Legende:

Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B1 basierend auf dem KM-Plotter

- beim Mammakarzinom
- beim Östrogenrezeptor-negativem Mammakarzinom
- beim nodal-positivem Mammakarzinom
- beim nodal-negativem Mammakarzinom
- bei erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom

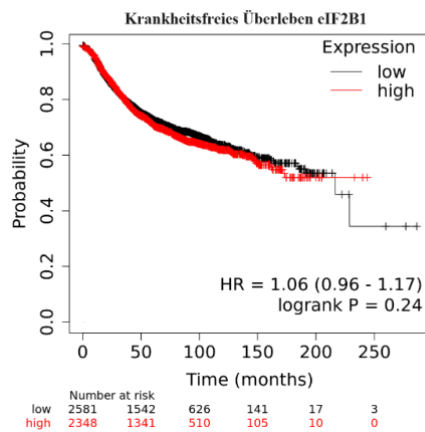


c.

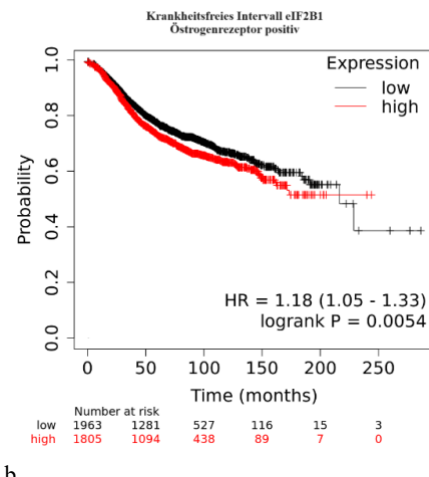


e.

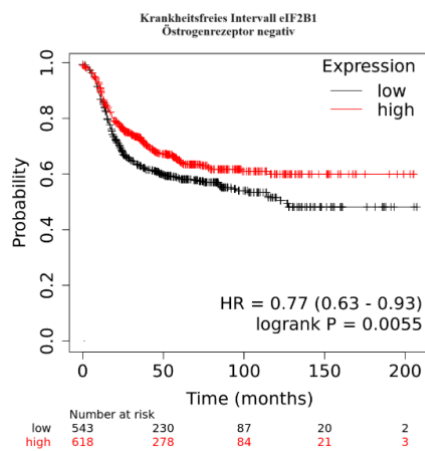
Abbildung: 6.3.6: Gesamtüberlebensanalyse in Abhängigkeit der eIF2B1-Expression mit Hilfe des KM-Plotters [166,167]



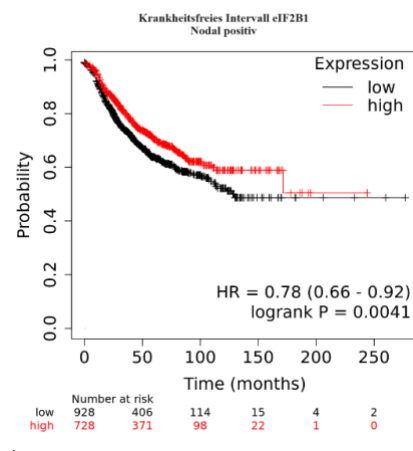
a.



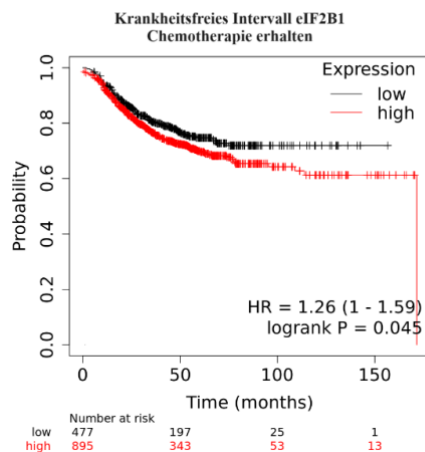
b.



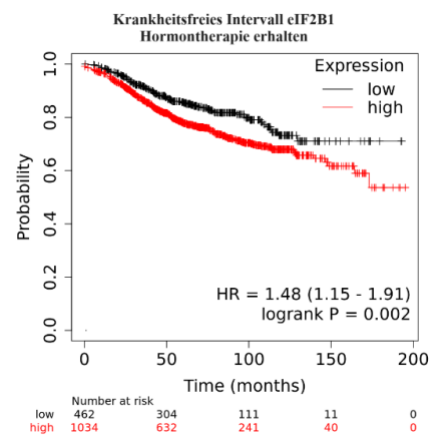
c.



d.



e.



f.

Legende:

Krankheitsfreies Überleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B1 basierend auf dem KM-Plotter

- a. beim Mammakarzinom
- b. beim Östrogenrezeptor-positivem Mammakarzinom
- c. beim Östrogenrezeptor-negativem Mammakarzinom
- d. beim Nodal-positivem Mammakarzinom
- e. bei erhaltender Chemotherapie beim Mammakarzinom
- f. bei erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom

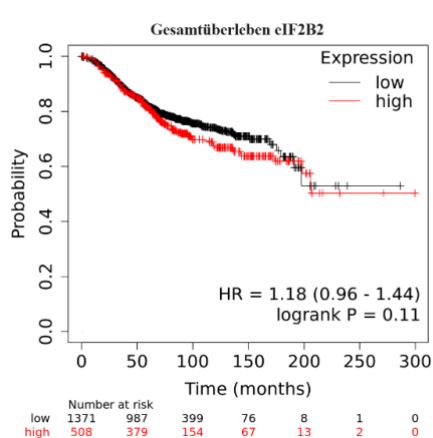
Abbildung: 6.3.7: Krankheitsfreies Überleben in Abhängigkeit der eIF2B1-Expression mit Hilfe des KM-Plotters [166,167]



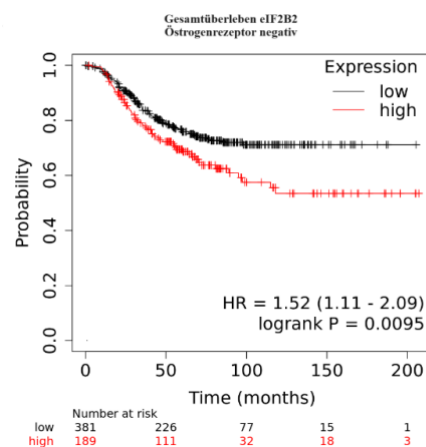
Parameter	Expressionsgrad eIF2B2	Medianes Gesamtüberleben				Medianes Krankheitsfreies Überleben			
		p	n	HR	Medianes Gesamtüberleben (Monaten)	p	n	HR	Medianes krankheitsfreies Überleben (Monaten)
Überleben	< Auto-Cutoff	0,109	1879	1,18	108,00	0,083	4929	1,10	216,66
	> Auto-Cutoff				75,83				184,04
<b>Östrogenrezeptor</b>									
negativ	< Auto-Cutoff	0,010**	570	1,52	67,40	0,018	1161	1,26	23,64
	> Auto-Cutoff				41,39				19,00
positiv	< Auto-Cutoff	0,132	1309	1,22	130,00	0,004**	3768	1,20	216,66
	> Auto-Cutoff				85,08				184,04
<b>HER2-neu-Status</b>									
negativ	< Auto-Cutoff	0,034	1459	1,29	123,60	0,004**	4047	1,20	228,85
	> Auto-Cutoff				80,65				184,04
positiv	< Auto-Cutoff	0,176	420	1,28	66,00	0,163	882	0,84	122,64
	> Auto-Cutoff				56,64				162,58
<b>Nodalstatus</b>									
Nodal negativ	< Auto-Cutoff	0,396	726	1,17	197,62	0,018	2368	1,25	228,85
	> Auto-Cutoff				143,00				216,66
Nodal positiv	< Auto-Cutoff	0,046	452	1,40	56,16	0,059	1656	0,84	122,64
	> Auto-Cutoff				36,48				171,43
<b>Erhaltene Chemotherapie</b>									
negativ	< Auto-Cutoff	0,064	549	1,40	151,04	0,030	1873	1,23	228,85
	> Auto-Cutoff				86,00				216,66
positiv	< Auto-Cutoff	0,013	398	1,71	108,00	0,604	1372	0,94	41,42
	> Auto-Cutoff				54,70				47,88
<b>Erhaltene Hormontherapie</b>									
negativ	< Auto-Cutoff	0,137	683	1,30	175,46	0,132	1935	0,87	42,12
	> Auto-Cutoff				110,04				60,00
positiv	< Auto-Cutoff	0,0003**	339	2,34	%	0,001**	1496	1,47	111,10
	> Auto-Cutoff				%				60,60

\*\* : signifikant bei Signifikanzniveau p= 0,01

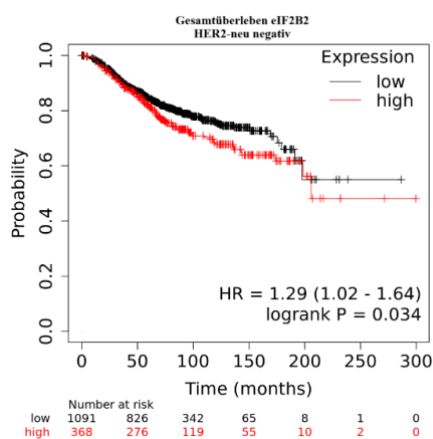
Tabelle 6.3.8: Überlebensdaten in Abhängigkeit der mRNA-Expressionen von eIF2B2 basierend der Datenbanken des KM-Plotters [166,167]



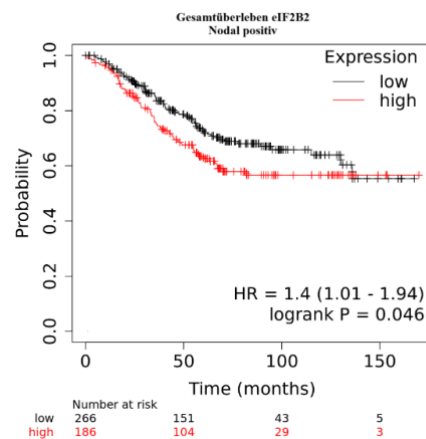
a.



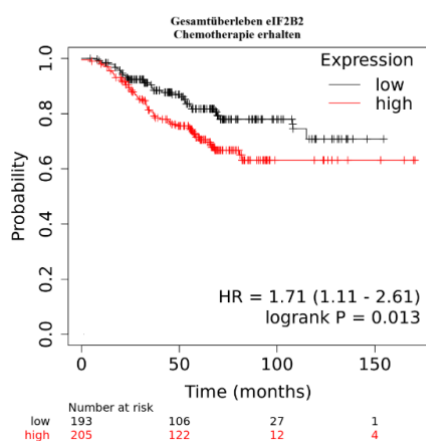
b.



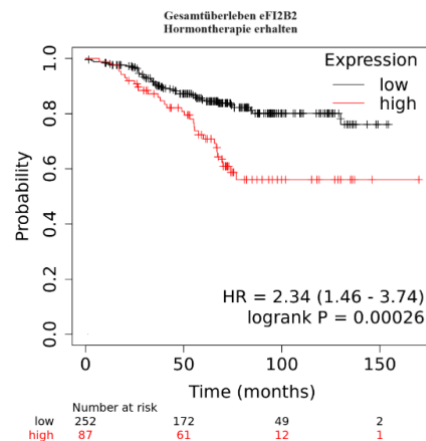
c.



d.



e.



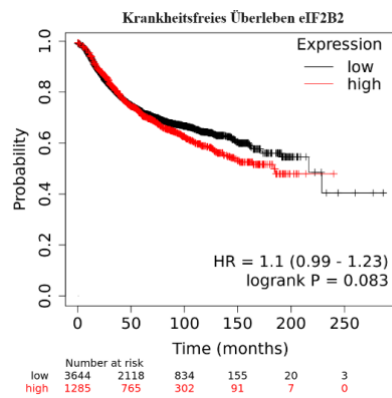
f.

Legende:

Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B2 basierend auf dem KM-Plotter

- a. beim Mammakarzinom
- b. beim Östrogenrezeptor-negativem Mammakarzinom
- c. beim HER2neu-negativem Mammakarzinom
- d. beim Nodal-positivem Mammakarzinom
- e. bei erhaltender Chemotherapie beim Mammakarzinom
- f. bei erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom

Abbildung: 6.3.8: Gesamtüberlebensanalyse in Abhängigkeit der eIF2B2-Expression mit Hilfe des KM-Plotters [166,167]

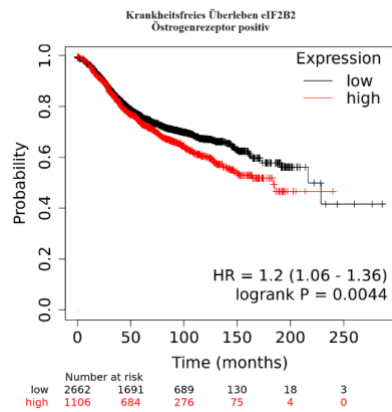


#### Legende:

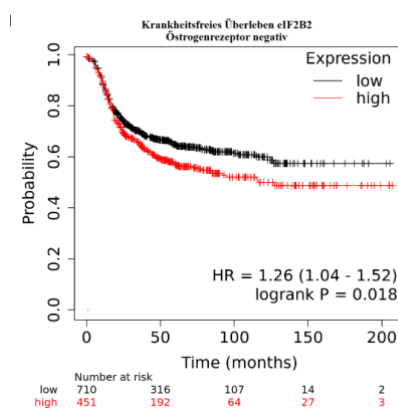
Krankheitsfreies Überleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B2 basierend auf dem KM-Plotter

- beim Mammakarzinom
- beim Östrogenrezeptor-positivem Mammakarzinom
- beim Östrogenrezeptor-negativem Mammakarzinom
- beim HER2-neu negativem Mammakarzinom
- beim Nodal-negativem Mammakarzinom
- bei nicht erhaltener Chemotherapie beim Mammakarzinom
- bei erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom

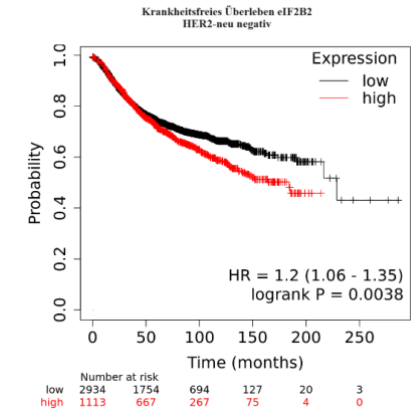
a.



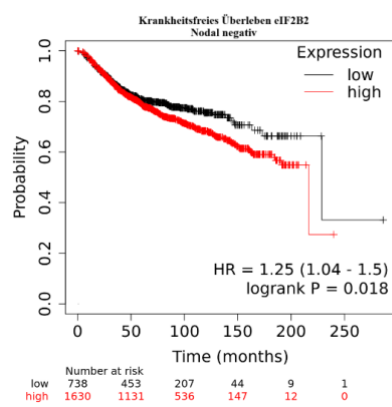
b.



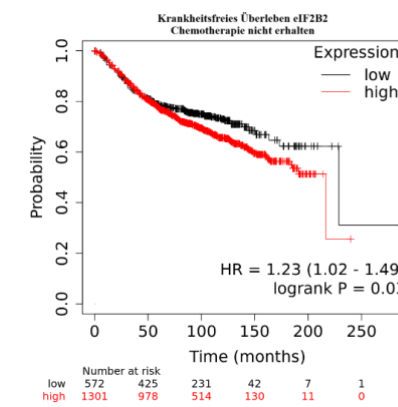
c.



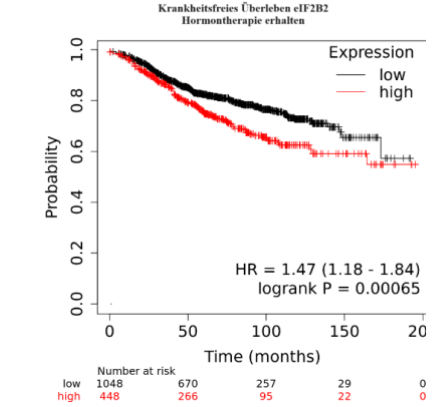
d.



e.



f.



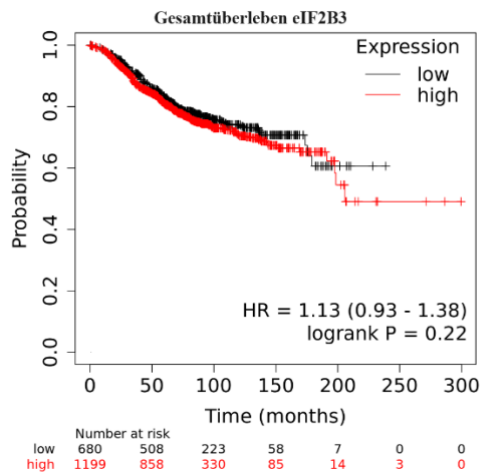
g.

Abbildung: 6.3.9: Krankheitsfreies Überleben in Abhängigkeit der eIF2B2-Expression mit Hilfe des KM-Plotters [166,167]

Parameter	Expressionsgrad eIF2B3	Medianes Gesamtüberleben				Medianes Krankheitsfreies Überleben			
		p	n	HR	Medianes Gesamtüberleben (Monaten)	p	n	HR	Medianes krankheitsfreies Überleben (Monaten)
Überleben	< Auto-Cutoff	0,224	1879	1,13	106,80	0,018	4929	1,14	216,66
	> Auto-Cutoff				86,00				228,85
<b>Östrogenrezeptor</b>									
negativ	< Auto-Cutoff	0,068	570	0,75	44,40	0,327	1161	1,11	24,00
	> Auto-Cutoff				69,99				20,61
positiv	< Auto-Cutoff	0,129	1309	1,21	136,80	0,031	3768	1,17	216,66
	> Auto-Cutoff				108,00				228,85
<b>HER2-neu-Status</b>									
negativ	< Auto-Cutoff	0,301	1459	1,31	123,60	0,008**	4047	1,18	216,66
	> Auto-Cutoff				99,00				228,85
positiv	< Auto-Cutoff	0,330	420	1,21	63,36	0,321	882	0,89	32,40
	> Auto-Cutoff				57,30				34,13
<b>Nodalstatus</b>									
Nodal negativ	< Auto-Cutoff	0,030	726	1,46	179,01	0,034	2368	1,21	95,00
	> Auto-Cutoff				108,00				66,00
Nodal positiv	< Auto-Cutoff	0,121	452	1,32	56,28	0,001**	1656	1,33	171,43
	> Auto-Cutoff				38,00				129,60
<b>Erhaltene Chemotherapie</b>									
negativ	< Auto-Cutoff	0,129	549	1,31	175,46	0,058	1873	1,21	216,66
	> Auto-Cutoff				99,00				228,85
positiv	< Auto-Cutoff	0,110	398	1,40	80,64	0,058	1372	1,23	53,36
	> Auto-Cutoff				55,46				38,00
<b>Erhaltene Hormontherapie</b>									
negativ	< Auto-Cutoff	0,147	683	1,31	143,00	0,022	1935	1,22	55,00
	> Auto-Cutoff				80,65				36,00
positiv	< Auto-Cutoff	0,007**	339	2,23	%	0,010**	1496	1,37	113,77
	> Auto-Cutoff				%				78,90

\*\* : signifikant bei Signifikanzniveau p= 0,01

Tabelle 6.3.9: Überlebensdaten in Abhängigkeit der mRNA-Expressionen von eIF2B3 basierend der Datenbanken des KM-Plotters [166,167]

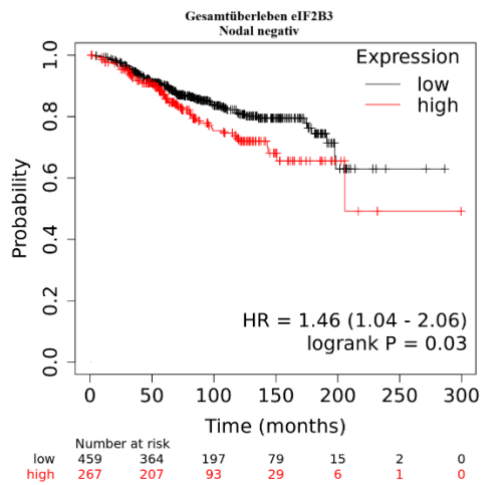


Legende:

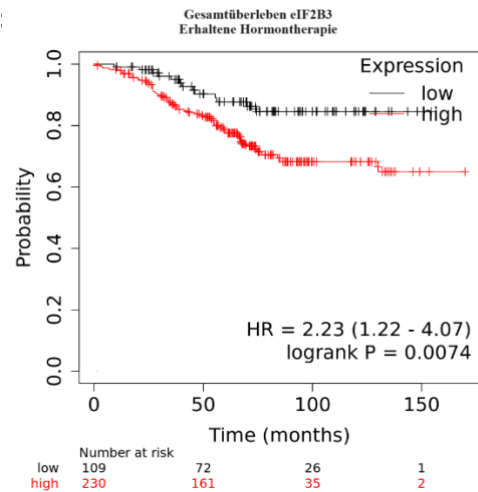
Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B3 basierend auf dem KM-Plotter

- a. beim Mammakarzinom
- b. beim Nodal-negativem Mammakarzinom
- c. bei erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom

a.

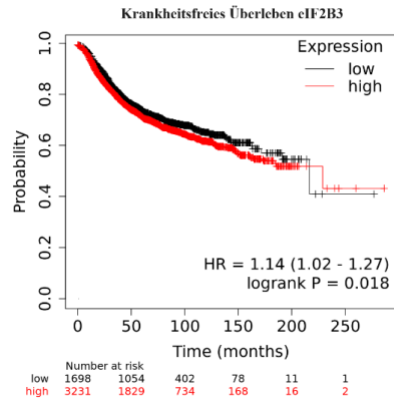


b.



c.

Abbildung: 6.3.10: Gesamtüberlebensanalyse in Abhängigkeit der eIF2B3-Expression mit Hilfe des KM-Plotters [166,167]

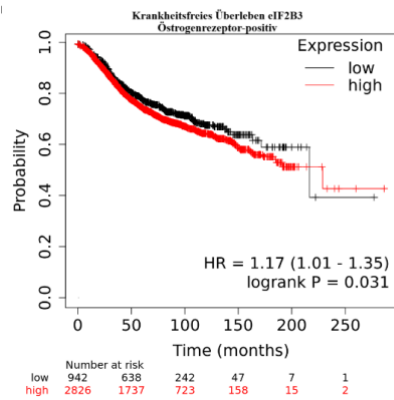


#### Legende:

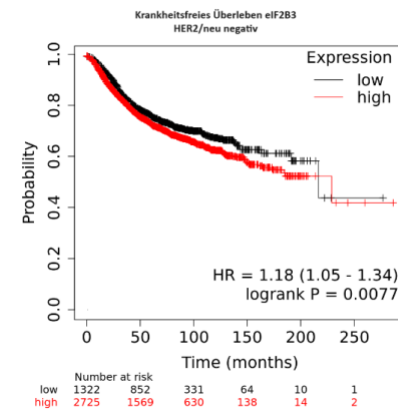
Krankheitsfreies Überleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B3 basierend auf dem KM-Plotter

- beim Mammakarzinom
- beim Östrogenrezeptor-positivem Mammakarzinom
- beim HER2-neu-negativem Mammakarzinom
- beim Nodal-positivem Mammakarzinom
- beim Nodal-negativem Mammakarzinom
- bei nicht erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom
- bei erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom

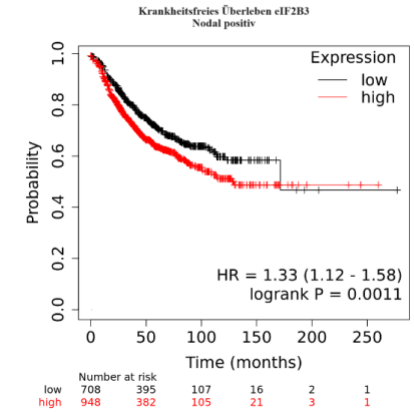
a.



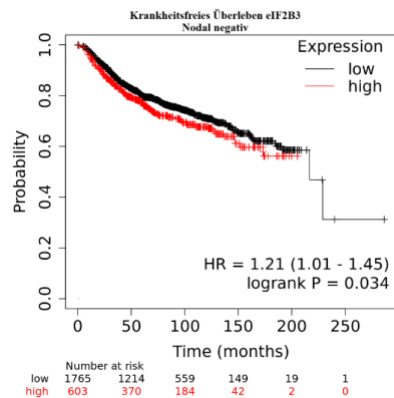
b.



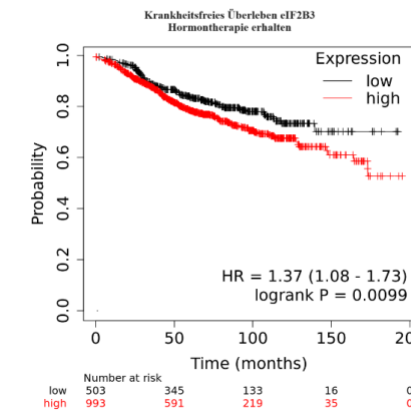
c.



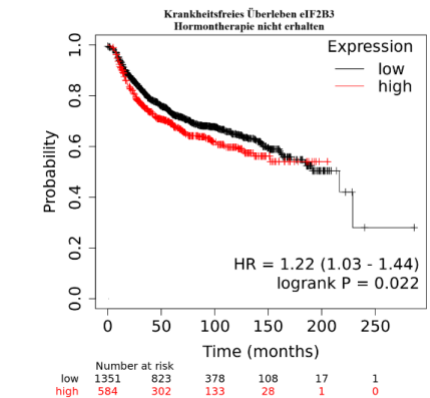
d.



e.



f.



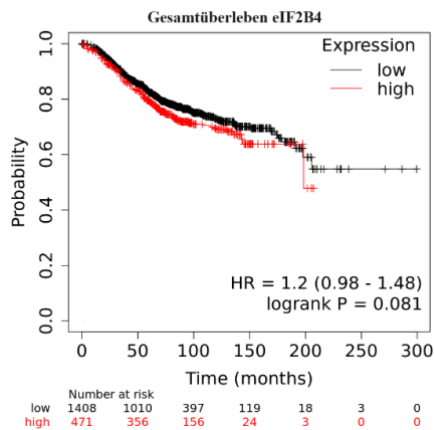
g.

Abbildung: 6.3.11: Krankheitsfreies Überleben in Abhängigkeit der eIF2B3-Expression mit Hilfe des KM-Plotters [166,167]

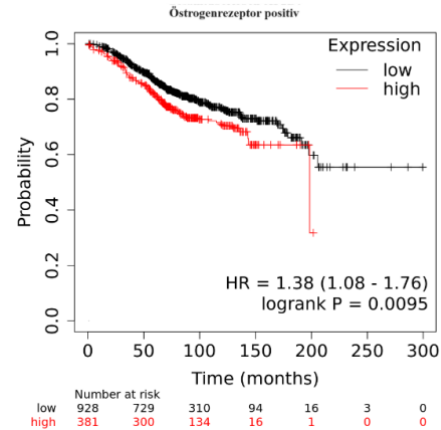
Parameter	Expressionsgrad eIF2B4	Medianes Gesamtüberleben				Medianes Krankheitsfreies Überleben			
		p	n	HR	Medianes Gesamtüberleben (Monaten)	p	n	HR	Medianes Krankheitsfreies Überleben (Monaten)
Überleben	< Auto-Cutoff > Auto-Cutoff	0,081	1879	1,20	105,44 74,07	0,0002**	4929	0,82	42,05 60,00
<b>Östrogenrezeptor</b>									
negativ	< Auto-Cutoff > Auto-Cutoff	0,192	570	1,25	64,80 47,21	0,058	1161	0,82	21,00 22,03
positiv	< Auto-Cutoff > Auto-Cutoff	0,010**	1309	1,38	135,84 82,00	0,005**	3768	0,84	52,00 72,00
<b>HER2-neu-Status</b>									
negativ	< Auto-Cutoff > Auto-Cutoff	0,095	1459	0,82	89,04 120,00	4,3x10 <sup>-6</sup> **	4047	0,77	44,00 72,07
positiv	< Auto-Cutoff > Auto-Cutoff	0,015	420	1,60	68,40 39,62	0,097	882	1,21	171,43 144,53
<b>Nodalstatus</b>									
Nodal negativ	< Auto-Cutoff > Auto-Cutoff	0,408	726	0,86	151,04 143,74	0,328	2368	0,92	79,41 93,40
Nodal positiv	< Auto-Cutoff > Auto-Cutoff	0,005**	452	1,63	55,52 33,40	0,105	1656	1,15	41,92 34,56
<b>Erhaltene Chemotherapie</b>									
negativ	< Auto-Cutoff > Auto-Cutoff	0,073	549	1,38	173,72 99,00	0,166	1873	0,88	61,64 78,90
positiv	< Auto-Cutoff > Auto-Cutoff	0,020	398	1,65	108,00 54,70	0,208	1372	0,87	42,12 54,70
<b>Erhaltene Hormontherapie</b>									
negativ	< Auto-Cutoff > Auto-Cutoff	0,415	683	1,15	125,92 115,00	0,011	1935	0,81	39,96 57,00
positiv	< Auto-Cutoff > Auto-Cutoff	0,001**	339	2,43	% %	0,243	1496	0,88	84,48 95,01

\*\* : signifikant bei Signifikanzniveau p= 0,01

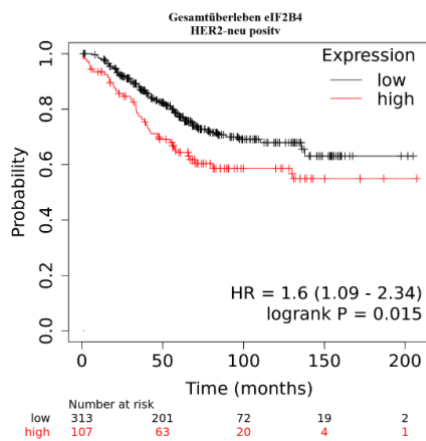
Tabelle 6.3.10: Überlebensdaten in Abhängigkeit der mRNA-Expressionen von eIF2B4 basierend der Datenbanken des KM-Plotters [166,167]



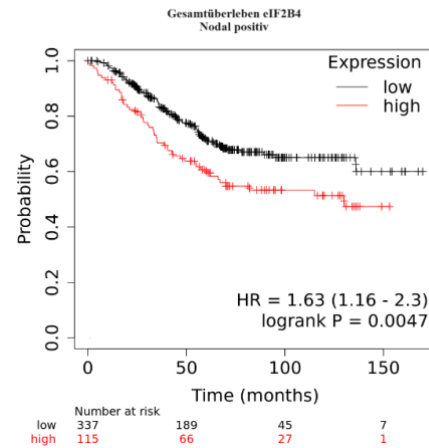
a.



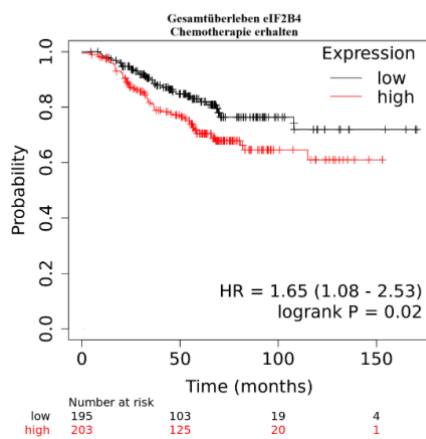
b.



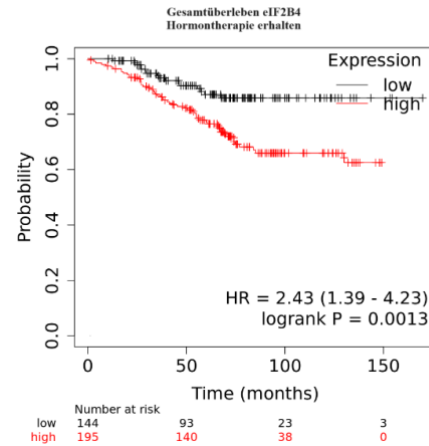
c.



d.



e.



f.

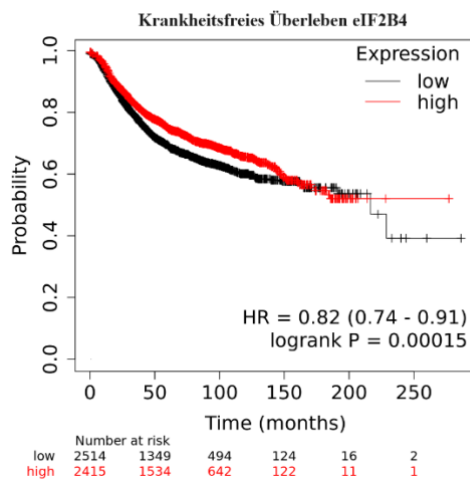
Legende:

Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B4 basierend auf dem KM-Plotter

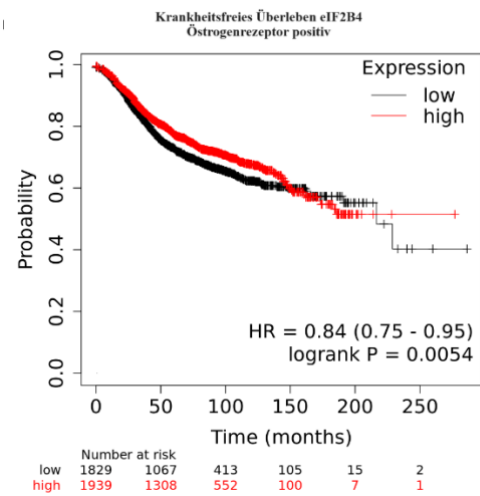
- a. beim Mammakarzinom
- b. beim Östrogenrezeptor-positivem Mammakarzinom
- c. beim HER2-neu-positivem Mammakarzinom
- d. beim Nodal-positivem Mammakarzinom
- e. bei erhaltender Chemotherapie beim Mammakarzinom
- f. bei erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom

Abbildung: 6.3.12: Gesamtüberlebensanalyse in Abhängigkeit der eIF2B4-Expression mit Hilfe des KM-Plotters [166,167]

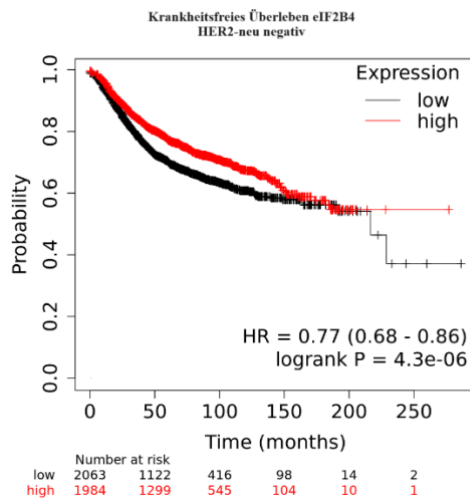




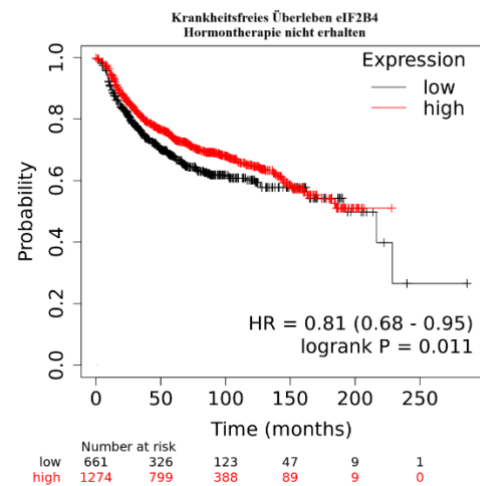
a.



b.



c.



d.

Legende:

Krankheitsfreies Überleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B4 basierend auf dem KM-Plotter

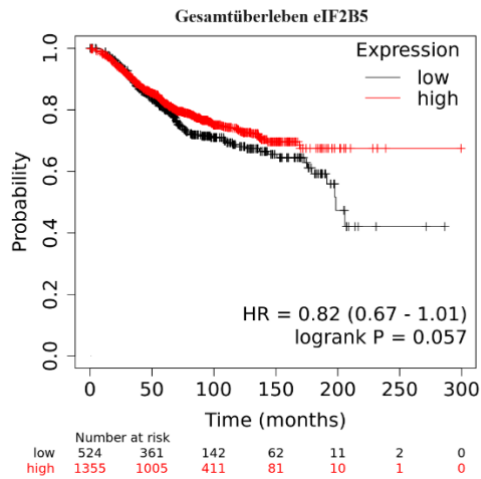
- beim Mammakarzinom
- beim Östrogenrezeptor-positivem Mammakarzinom
- beim HER2-neu-negativem Mammakarzinom
- bei nicht erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom

Abbildung: 6.3.13: Krankheitsfreies Überleben in Abhängigkeit der eIF2B4-Expression mit Hilfe des KM-Plotters [166,167]

Parameter	Expressionsgrad eIF2B5	Medianes Gesamtüberleben				Medianes Krankheitsfreies Überleben			
		p	n	HR	Medianes Gesamtüberleben (Monaten)	p	n	HR	Medianes krankheitsfreies Überleben (Monaten)
Überleben	< Auto-Cutoff	0,057	1879	0,82	72,20	1x10 <sup>-7**</sup>	4929	0,75	191,21
	> Auto-Cutoff				105,44				216,66
<b>Östrogenrezeptor</b>									
negativ	< Auto-Cutoff	0,065	570	1,36	64,80	0,072	1161	0,83	19,00
	> Auto-Cutoff				40,77				22,57
positiv	< Auto-Cutoff	0,104	1309	0,81	90,00	0,0002**	3768	0,78	191,21
	> Auto-Cutoff				123,60				216,66
<b>HER2-neu-Status</b>									
negativ	< Auto-Cutoff	0,018	1459	0,75	80,64	4,3x10 <sup>-8**</sup>	4047	0,71	191,21
	> Auto-Cutoff				121,20				216,66
positiv	< Auto-Cutoff	0,258	420	1,29	69,99	0,181	882	0,86	122,64
	> Auto-Cutoff				56,64				162,58
<b>Nodalstatus</b>									
Nodal negativ	< Auto-Cutoff	0,116	726	1,33	175,46	8,7x10 <sup>-5**</sup>	2368	1,38	216,66
	> Auto-Cutoff				99,00				185,16
Nodal positiv	< Auto-Cutoff	0,119	452	1,30	55,00	0,042	1656	0,82	122,64
	> Auto-Cutoff				35,27				171,43
<b>Erhaltene Chemotherapie</b>									
negativ	< Auto-Cutoff	0,039	549	1,46	173,72	0,002**	1873	1,29	216,66
	> Auto-Cutoff				88,67				185,16
positiv	< Auto-Cutoff	0,058	398	0,66	54,64	0,027	1372	1,29	51,00
	> Auto-Cutoff				115,00				32,82
<b>Erhaltene Hormontherapie</b>									
negativ	< Auto-Cutoff	0,070	683	0,74	97,48	0,001**	1935	1,33	216,66
	> Auto-Cutoff				143,00				161,29
positiv	< Auto-Cutoff	0,110	339	0,68	67,56	0,169	1496	1,16	95,44
	> Auto-Cutoff				130,00				76,00

\*\* : signifikant bei Signifikanzniveau p= 0,01

Tabelle 6.3.11: Überlebensdaten in Abhängigkeit der mRNA-Expressionen von eIF2B5 basierend der Datenbanken des KM-Plotters [166,167]

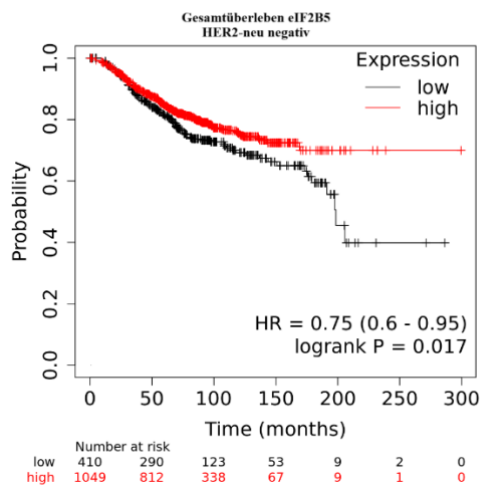


Legende:

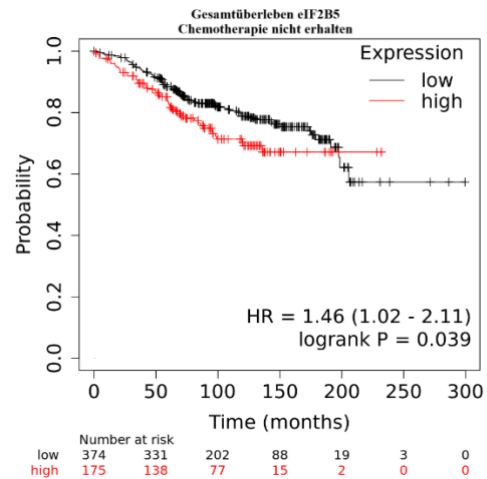
Gesamtüberleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B5 basierend auf dem KM-Plotter

- beim Mammakarzinom
- beim HER2-neu-negativem Mammakarzinom
- bei nicht erhaltener Chemotherapie beim Mammakarzinom

a.

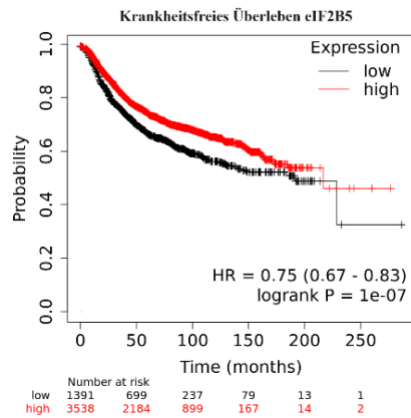


b.

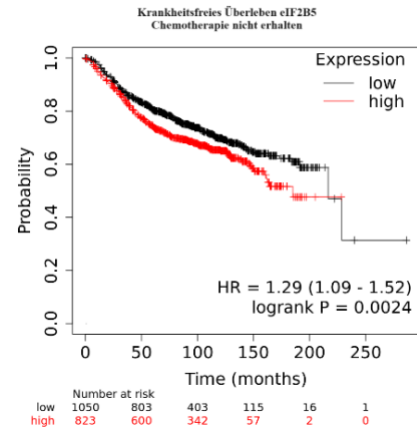


c.

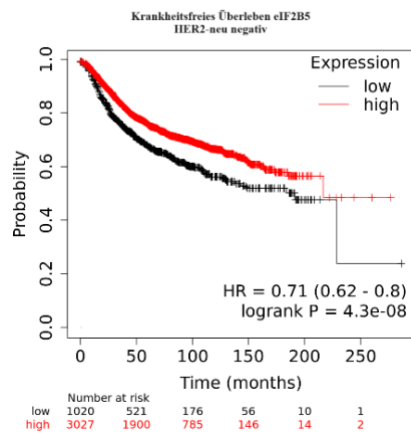
Abbildung: 6.3.14: Gesamtüberlebensanalyse in Abhängigkeit der eIF2B5-Expression mit Hilfe des KM-Plotters [166,167]



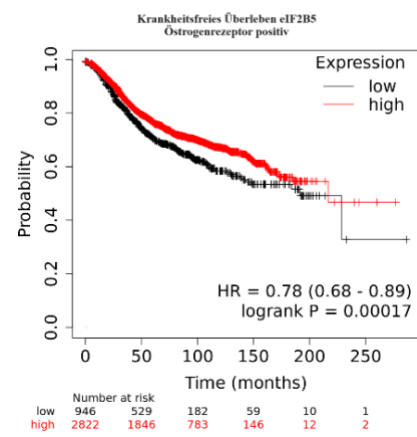
a.



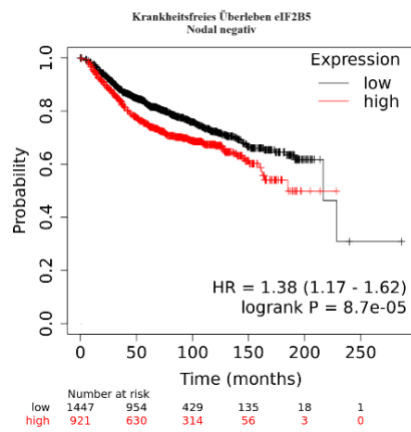
g.



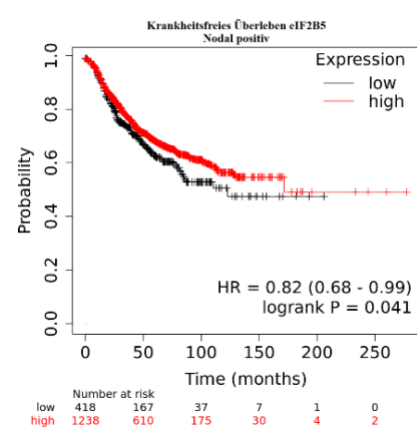
c.



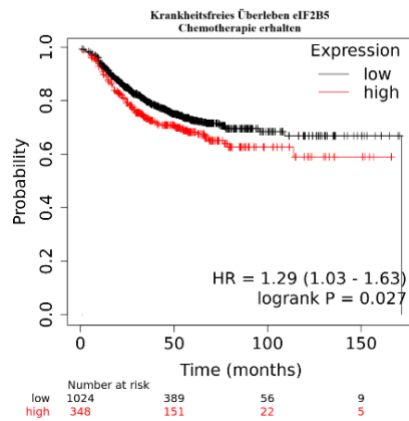
b.



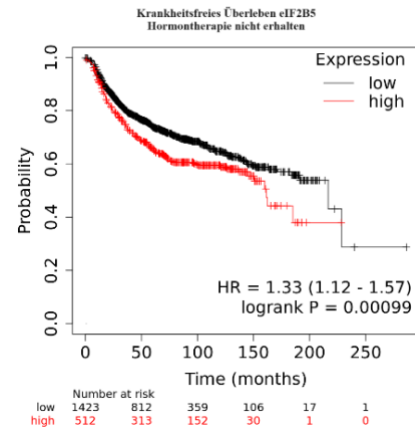
e.



d.



f.



h.

Legende:

Krankheitsfreies Überleben in Abhängigkeit der mRNA-Expression von eIF2B5 basierend auf dem KM-Plotter

- beim Mammakarzinom
- beim Östrogenrezeptor-positivem Mammakarzinom
- beim HER2-neu-negativem Mammakarzinom
- beim Nodal-positivem Mammakarzinom
- beim Nodal-negativem Mammakarzinom
- bei erhaltender Chemotherapie beim Mammakarzinom
- bei nicht erhaltener Chemotherapie beim Mammakarzinom
- bei nicht erhaltener Hormontherapie beim Mammakarzinom

Abbildung 6.3.15: Krankheitsfreies Überleben in Abhängigkeit der eIF2B5-Expression mit Hilfe des KM-Plotters [166,167]