

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

Die Rolle von GPER-1 beim Mammakarzinom des Mannes

D i s s e r t a t i o n

Zur Erlangung des Doktorgrades

Dr. med.

(doctor medicinae)

an der Medizinischen Fakultät

der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

Vorgelegt von

Jan Hendrik Maiwald

aus

Kassel

Magdeburg

21.10.2023

Dokumentationsblatt

Bibliographische Beschreibung

Maiwald, Jan Hendrik:

Der Einfluss von GPER-1 beim Mammakarzinom des Mannes. - 57 Bl., 21 Abb., 67 Tab., 6 Anl.

Kurzreferat

Das Mammakarzinom stellt bei Männern eine seltene Erkrankung dar. Bei Frauen mit Brustkrebs wurde der G-Protein-gekoppelte-Östrogenrezeptor 1 (GPER-1) mit einer erhöhten Tumorgroße und Metastasierung korreliert. Allerdings gibt es auch Studien, die einen Zusammenhang mit einer erhöhten Überlebenschance nahelegen.

Die vorliegende Studie untersuchte die Expression des G-Protein-gekoppelten-Östrogenrezeptors 1 (GPER-1) bei 161 männlichen Patienten mit primärem Brustkrebs und deren Einfluss auf klinisch-pathologische Parameter sowie das Gesamtüberleben (OS) und die rezidivfreie Zeit (RFS). Eine positive GPER-1-Expression (GPER-1 Immunoscore ≥ 4) wurde bei 40,4% der Proben festgestellt und war mit einer reduzierten Anzahl an Todesfällen und einem verbesserten OS assoziiert. Allerdings ließ sich nach Anpassung durch einen Permutationstest kein signifikanter Einfluss auf das OS verifizieren. Es wurde auch kein Zusammenhang zwischen GPER-1 und RFS beobachtet. In der univariablen Cox-Regression zeigte sich, dass GPER-1 als möglicher prognostisch relevanter Faktor für das OS dienen könnte, jedoch war in der multivariablen Cox-Regression nur der Lymphknotenstatus ein signifikanter Einflussfaktor.

Die Überlebenschance der Patienten wurde signifikant durch Adipositas, Tumorgroße und Lymphknotenstatus beeinflusst. Bezogen auf das RFS hatten das Vorliegen von Lymphknoten- und Fernmetastasen einen signifikanten Einfluss.

Schlüsselwörter

Mammakarzinom bei Männern, Brustkrebs, male breast cancer, MBC, G-Protein-gekoppelter Östrogenrezeptor 1, GPER-1, GPR30

Inhaltsverzeichnis

DOKUMENTATIONSBLATT	I
INHALTSVERZEICHNIS	II
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	IV
TABELLENVERZEICHNIS	V
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	VIII
1 EINFÜHRUNG	1
1.1 Das Mammakarzinom des Mannes	1
1.1.1 Epidemiologie.....	1
1.1.2 Ätiologie und Risikofaktoren.....	1
1.1.3 Klinik.....	4
1.1.4 Diagnose und Screening	4
1.1.5 Pathologie	5
1.1.6 Staging	6
1.1.7 Therapie	6
1.1.8 Prognose.....	8
1.2 G-Protein-gekoppelter Östrogenrezeptor 1 (GPER-1).....	8
1.2.1 Entdeckung und Struktur.....	8
1.2.2 Lokalisation	9
1.2.3 Funktion.....	10
1.2.4 Einfluss auf Tumore, insbesondere Mammakarzinom	11
1.2.5 Kritik	12
1.3 Ziel der Arbeit.....	14
2 MATERIAL UND METHODEN	15
2.1 Material	15
2.1.1 Patientenkollektiv	15
2.1.2 Patientendaten	16
2.2 Methoden.....	17
2.3 Statistische Auswertung.....	19
3 ERGEBNISSE.....	21
3.1 Aufteilung des Patientenkollektivs	21
3.2 GPER-1-Expression.....	22
3.2.1 Nachbeobachtungsuntersuchungen (Follow-up).....	22
3.2.2 Überlebens- und Rezidivrate.....	22
3.3 Klinisch-pathologische Ergebnisse.....	25
3.3.1 Ätiologie und Risikofaktoren.....	25
3.3.2 Pathologie	31
3.3.3 Therapie	40
4 DISKUSSION.....	45
4.1 GPER-1-Ergebnisse.....	45

4.2	Klinisch-pathologische Ergebnisse	47
4.2.1	Ätiologie und Risikofaktoren	47
4.2.2	Pathologie	50
4.2.3	Therapie	53
4.2.4	Prognose	54
4.3	Kritische Beurteilung der Studie	54
4.4	Ausblick	56
5	ZUSAMMENFASSUNG	57
	LITERATURVERZEICHNIS	IX
	VERÖFFENTLICHUNG	XXI
	DANKSAGUNGEN	XXII
	EHRENERKLÄRUNG	XXIII
	LEBENS LAUF	XXIV
6	ANHANG	XXV
6.1	Familienanamnese	XXV
6.2	Hormonrezeptoren	XXVI
6.3	Histopathologische Typen	XXVIII
6.4	Metastasen	XXIX
6.5	Grading	XXX
6.6	Operationen	XXXI
6.7	Strahlentherapie	XXXII
6.8	Endokrine Therapie	XXXIII
6.9	Todesursache: MBC	XXXIV
6.10	Protokoll der GPER-1 Immunhistochemie	XXXV

Abkürzungsverzeichnis

5-YSR	5-year survival rate, 5-Jahres-Überlebensrate
AR	Androgenrezeptor
BET	brusterhaltende Therapie
BMI	Body-Mass-Index, Körpermasseindex
BRCA1/2	Breast Cancer Gen 1/2
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CHEK2	Checkpoint kinase 2
CTGF	connective tissue growth factor
CYP17	Cytochrom P450 17
DCIS	duktales carcinoma in situ
DRKS	Deutsches Register Klinischer Studien
E ₂	Östradiol
EGFR	epidermal growth factor Rezeptor
ER	Östrogenrezeptor
Erk-1/-2	Extracellular-signal Regulated Kinasen-1/-2
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
GPCR	G-Protein-gekoppelter Rezeptor
GPER-1	G-Protein-gekoppelten Östrogenrezeptor-1
GPR30	G-Protein-gekoppelter Rezeptor 30
HB-EGF	Heparin-bindender epidermal growth factor
HER2/neu	human epidermal growth factor receptor 2
HR	Hazard Ratios
IQR	Interquartilsabstand
IRS	Immunreaktiver Score
MAP-Kinase	Mitogen-aktivierte Proteinkinasen
MBC	male breast cancer, Mammakarzinom des Mannes
MMP	Membranständige Metalloprotease
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
NST	nicht-spezifischer Typ (des invasiven Karzinoms)
OHT	Hydroxytamoxifen
OS	overall Survival, Gesamtüberleben
PALB2	Partner and localizer of BRCA2
PI3K	Phosphoinositid-3-Kinase
PR	Progesteronrezeptor
PTEN	Phosphatase and Tensin homolog
RFS	relapse-free survival, rezidivfreie Zeit
SD	Standardabweichung
SEER	Surveillance, Epidemiology, and End Results Programm
SERM	Selektiver Östrogenrezeptor-Modulator
SNB	Sentinel-Node-Biopsie
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: TNM-Klassifikation, modifiziert nach S3-Leitlinie Mammakarzinom (68).....	6
Tabelle 2: Bewertung der Färbungsausdehnung und der Färbeintensität nach IRS	18
Tabelle 3: GPER-1-Score und Aufteilung in GPER-Positiv und GPER-Negativ	21
Tabelle 4: Beobachtungszeitraum in Wochen und Vergleich der Mittelwerte zwischen den GPER-1-Gruppen über den t-Test	22
Tabelle 5: Zusammenhang der verstorbenen Patienten bzw. aufgetretenen Rezidive mit GPER-1-Expression; Ergebnisse des Exakten Tests nach Fisher.....	23
Tabelle 6: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach GPER-1	23
Tabelle 7: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach GPER-1	24
Tabelle 8: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf GPER-1-Expression	24
Tabelle 9: Alter bei Erstdiagnose [Jahre] und Vergleich der Mittelwerte zwischen den GPER-1-Gruppen über den t-Test.....	25
Tabelle 10: Zusammenhang zwischen Altersgruppen und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests und des Spearman's Rho-Korrelationskoeffizienten.....	26
Tabelle 11: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach Altersgruppen	26
Tabelle 12: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach Altersgruppen.....	27
Tabelle 13: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf das Alter	27
Tabelle 14: Ergebnisse der multivariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens bezogen auf die Parameter GPER-1 und Alter bei Erstdiagnose	27
Tabelle 15: Body-Mass-Index (BMI) und Vergleich der Mittelwerte zwischen den GPER-1-Gruppen über den t-Test.....	29
Tabelle 16: Zusammenhang zwischen BMI und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests und des Spearman's Rho-Korrelationskoeffizienten	29
Tabelle 17: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach BMI	30
Tabelle 18: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach BMI.....	30
Tabelle 19: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf Adipositas.....	31
Tabelle 20: Zusammenhang zwischen den histopathologischen Typen und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests	32
Tabelle 21: Zusammenhang zwischen T-Klassifikation und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests bzw. Exakten Tests nach Fisher und des Spearman's Rho-Korrelationskoeffizienten	33
Tabelle 22: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach T-Klassifikation	34
Tabelle 23: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach T-Klassifikation.....	35
Tabelle 24: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf den T-Status.....	36

Tabelle 25: Zusammenhang zwischen N-Klassifikation und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests bzw. Exakten Tests nach Fisher und des Spearman's Rho-Korrelationskoeffizienten	36
Tabelle 26: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach N-Klassifikation.....	37
Tabelle 27: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach N-Klassifikation	38
Tabelle 28: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf den N-Status	38
Tabelle 29: Ergebnisse der multivariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens bezogen auf die Parameter GPER-1, Alter bei Erstdiagnose, Tumorgöße, Lymphknotenstatus und Adipositas	39
Tabelle 30: Zusammenhang zwischen operativer Therapie der Axilla und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests	41
Tabelle 31: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach operativer Therapie der Axilla	42
Tabelle 32: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach operativer Therapie der Axilla	43
Tabelle 33: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf die operative Therapie der Axilla.....	43
Tabelle 34: Ergebnisse der multivariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens bezogen auf die Parameter Axilladissektion, Tumorgöße und Lymphknotenstatus.....	43
Tabelle 35: Ergebnisse der multivariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens bezogen auf die Parameter SNB, Tumorgöße und Lymphknotenstatus	43
Tabelle 36: Zusammenhang zwischen Familienanamnese und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Exakten Tests nach Fisher.....	XXV
Tabelle 37: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten bei positiver Familienanamnese.....	XXV
Tabelle 38: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten bei positiver Familienanamnese	XXV
Tabelle 39: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf die Familienanamnese	XXV
Tabelle 40: Zusammenhang zwischen den Hormonrezeptoren und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Exakten Tests nach Fisher.....	XXVI
Tabelle 41: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach Hormonrezeptoren	XXVI
Tabelle 42: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach Hormonrezeptoren	XXVII
Tabelle 43: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf die Hormonrezeptoren	XXVII
Tabelle 44: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach Hormonrezeptoren nach histopathologischen Typen; aufgrund einer 100 % Überlebensrate sind die mit (*) markierten Einträge nicht definiert.....	XXVIII
Tabelle 45: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach histopathologischen Typen; aufgrund einer 100 % Überlebensrate sind die mit (*) markierten Einträge nicht definiert	XXVIII

Tabelle 46: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf das invasive Karzinom NST	XXVIII
Tabelle 47: Zusammenhang zwischen M-Status und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Exakten Tests nach Fisher	XXIX
Tabelle 48: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach M-Status	XXIX
Tabelle 49: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach M-Status	XXIX
Tabelle 50: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf den M-Status	XXIX
Tabelle 51: Zusammenhang zwischen Grading und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests und des Spearman's Rho-Korrelationskoeffizienten	XXX
Tabelle 52: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach Grading	XXX
Tabelle 53: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach Grading	XXX
Tabelle 54: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf das Grading	XXX
Tabelle 55: Zusammenhang zwischen der durchgeführten Operation und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests	XXXI
Tabelle 56: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach Operationen; aufgrund einer 100 % Überlebensrate sind die mit (*) markierten Einträge nicht definiert	XXXI
Tabelle 57: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach Operationen	XXXI
Tabelle 58: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf Ablatio mammae	XXXII
Tabelle 59: Zusammenhang zwischen Strahlentherapie und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests	XXXII
Tabelle 60: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach Strahlentherapie	XXXII
Tabelle 61: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach Strahlentherapie	XXXII
Tabelle 62: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf die Strahlentherapie	XXXII
Tabelle 63: Zusammenhang zwischen endokriner Therapie und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests	XXXIII
Tabelle 64: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach endokriner Therapie; keine endokrine Therapie vs. alle endokrinen Therapien	XXXIII
Tabelle 65: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach endokriner Therapie; keine endokrine Therapie vs. alle endokrinen Therapien	XXXIII
Tabelle 66: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf die endokrine Therapie	XXXIII
Tabelle 67: Zusammenhang zwischen am MBC verstorbenen Patienten und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests	XXXIV

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Graphische Darstellung der Topologie der GPCRs, modifiziert nach Ji et al. (101).....	9
Abbildung 2: Signalwege von GPER-1, modifiziert nach Prossnitz et al. (109): Östradiol (E_2) bindet am intrazellulären GPER-1-Rezeptor. Dadurch werden Adenylylcyclasen aktiviert und cAMP produziert. Src aktiviert Matrix-Metalloproteinasen (MMP) wodurch der Heparin-bindenden epidermal growth factor (HB-EGF) aktiviert wird und somit auch der epidermal growth factor Rezeptor (EGFR). Über diesen Weg werden Calcium-Ionen aus dem ER ins Zytoplasma freigesetzt und die genomischen MAPK- und PI3K-Signalwege aktiviert.	10
Abbildung 3: Organigramm zu den eingeschlossenen Patienten dieser Studie	15
Abbildung 4: Repräsentative Bilder der GPER-1-Färbungsintensität: A keine Färbereaktion, B schwache Intensität, C mittlere Intensität und D starke Intensität Maßstab: 50 μ m	18
Abbildung 5: Repräsentative Bilder der GPER-1-Färbungsintensität: A keine Färbereaktion, B schwache Intensität, C mittlere Intensität und D starke Intensität Maßstab: 500 μ m	19
Abbildung 6: Verteilung der Patienten anhand des IRS und Aufteilung der Patienten in GPER-1-positiv und -negativ.....	21
Abbildung 7: Kaplan-Meier Kurve der Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit von der GPER-1 Expression ($IRS \geq 4$).....	24
Abbildung 8: Kaplan-Meier-Kurve des rezidivfreien Überlebens in Abhängigkeit von der GPER-1 Expression ($IRS \geq 4$).....	24
Abbildung 9: Alter bei Erstdiagnose in Abschnitten von 5 Jahren.....	25
Abbildung 10: Histogramm Body-Mass-Index.....	28
Abbildung 11: relative Häufigkeiten des BMI.....	29
Abbildung 12: Kaplan-Meier Kurve der Überlebenswahrscheinlichkeit von adipösen und nicht-adipösen Personen.....	30
Abbildung 13: relative Häufigkeiten der Hormonrezeptoren	31
Abbildung 14: relative Häufigkeiten der histopathologischen Typen.....	32
Abbildung 15: relative Häufigkeiten des pT-Status	34
Abbildung 16: Kaplan-Meier Kurve der Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit vom pT-Status.....	35
Abbildung 17: relative Häufigkeiten des pN-Status.....	37
Abbildung 18: Kaplan-Meier Kurve der Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit vom pN-Status	38
Abbildung 19: relative Häufigkeiten der operativen Therapien	40
Abbildung 20: relative Häufigkeiten der operativen Therapien der Axilla.....	41
Abbildung 21: Kaplan-Meier Kurve der Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit von der operativen Therapie der Axilla.....	42

1 Einführung

1.1 Das Mammakarzinom des Mannes

1.1.1 Epidemiologie

Beim Mammakarzinom des Mannes (MBC, englisch: male breast cancer) handelt es sich um eine seltene Krankheit. In Deutschland ist das Mammakarzinom bei Frauen mit einer Häufigkeit von 17,6 % die häufigste Krebstodesursache. Im Gegensatz dazu liegt die Häufigkeit des Brustkrebs bei Männern mit 0,1 % der Krebstodesfälle lediglich an 25. Stelle, vergleichbar mit der Häufigkeit von Morbus Hodgkin (1). In den Vereinigten Staaten von Amerika macht das Mammakarzinom weniger als 1 %, in Deutschland 1,1 % aller Krebsfälle des Mannes aus (1–3). Im Jahr 2016 hatte das Mammakarzinom in Deutschland einen Anteil von 0,3 % an allen Krebsneuerkrankungen bei Männern (1). Betrachtet man alle Brustkrebsfälle bei Männern und Frauen gemeinsam, stellt das MBC mit weniger als 1 % nur einen Bruchteil aller Fälle dar (1, 4).

Dennoch ist eine steigende Inzidenz beschrieben. In den USA ist die altersbereinigte Inzidenzrate pro 100.000 Einwohner vom Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Programm erfasst worden. Sie ist von 0,86 Fällen in den Jahren 1973-1978, auf 1,22 in den Jahren 2000-2004 angestiegen. In den Jahren 2010-2014 lag sie bei 1,25 pro 100.000 Einwohnern (5, 6). Diese deutliche Zunahme der Inzidenz konnte durch weitere Studien aus dem Vereinigten Königreich (7) und aus Deutschland (1, 8) bestätigt werden. Im Jahr 2018 erhielten 720 Männern die Diagnose MBC, verglichen zu 600 Fällen im Jahr 2015 (1, 9). Die 5-Jahres-Prävalenz des MBC lag bei 2.600 Männern, die 10-Jahres-Prävalenz bei 4.200 (1). Aufgrund der Seltenheit der Erkrankungen werden für Deutschland keine regionalen Unterschiede der Bundesländer angegeben. Bei Frauen ist die höchste Inzidenz in Schleswig-Holstein beschrieben, die niedrigste in Sachsen-Anhalt (1).

1.1.2 Ätiologie und Risikofaktoren

Durch die Seltenheit der Erkrankung ist die Ätiologie des MBC in weiten Teilen immer noch unklar. Dennoch konnten einige Risikofaktoren identifiziert werden.

1.1.2.1 Alter

Obwohl das MBC in jedem Alter auftreten kann, existiert ein einzelner Häufigkeitsgipfel im Alter zwischen 68-75 Jahren (10, 11). Das Risiko eines 35-jährigen Mannes, in den nächsten zehn Jahren an Brustkrebs zu erkranken, beträgt etwa 1:30.800, während es für einen 65-

jährigen Mann bei 1:2.200 liegt (1). Das SEER Programm hat gezeigt, dass die altersbereinigte Rate bei Personen unter 65 Jahren bei 0,4 pro 100.000 Einwohnern, bei Personen über diesem Alter bei 6,4/100.000 liegt (6). Im Vergleich zu Frauen ist auffällig, dass das mediane Alter beim Zeitpunkt der Diagnose etwa sechs Jahre höher ist. Bei Frauen liegt es bei 61 Jahren, bei Männern bei 67 Jahren (5, 10).

1.1.2.2 Familienanamnese

Bei Frauen wurde ein deutlich erhöhtes Erkrankungsrisiko beschrieben, falls die Patientin eine Familienangehörige ersten Grades mit Brustkrebs hat (12). Bei Männern scheint das Risiko an Brustkrebs zu erkranken ebenfalls erhöht zu sein, wenn sie eine Familienangehörige ersten Grades mit Brustkrebs haben (13). Etwa 15-20 % haben eine positive Familienanamnese für Brustkrebs (14, 15).

1.1.2.3 Genetik

Bei etwa 10 % der MBC-Fälle ist von Mutationen in Genen auszugehen, die als Suszeptibilitätsgene für BC identifiziert wurden. Es wurden Mutationen in verschiedenen Genen beschrieben, die jeweils ein unterschiedliches Risiko haben, zum MBC zu führen. Es konnten Gene mit hoher, moderater und niedriger Penetranz identifiziert werden (16). Das National Comprehensive Cancer Network (NCCN) empfiehlt, dass alle männlichen Patienten mit Brustkrebs oder Patient*innen mit einem an Brustkrebs erkrankten männlichem Verwandten eine genetische Beratung und Testung auf typische Mutationen erhalten sollten (17).

Hohe Penetranz

Mutierte Breast Cancer 1/2 (BRCA 1/2)-Gene haben einen großen Anteil bei der Entwicklung von familiär bedingtem Brustkrebs (18). Sie sind auf Chromosom 17q bzw. 13q lokalisiert und die Veranlagung zur Tumorentwicklung wird autosomal-dominant vererbt (19, 20). In der Allgemeinbevölkerung treten sie mit einer Rate von 1:300 bis 1:465 auf (0,22 - 0,33 %) (21). Sie gelten als Tumorsuppressor-Gene und spielen wichtige Rollen bei der DNA-Reparatur (22). In Zellen mit mutierten BRCA-Genen ist daher die DNA-Reparatur gestört. Dies kann zu genomischer Instabilität, chromosomalen Rearrangements und zur Karzinogenese führen (23). Zusätzlich zu BC wird ein höheres Risiko beschrieben, an Ovar-, Prostata- und Pankreaskrebs zu erkranken (24, 25).

In der ClinVar-Datenbank konnten über 3.800 pathogene BRCA1- und über 4.600 pathogene BRCA2-Mutationen abgerufen werden (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>; Stand 21. Oktober 2023). Bei Männern führt eine BRCA2-Mutation häufiger zum Brustkrebs als eine BRCA1-Mutation. Es wird vermutet, dass bei etwa 10 % aller MBC Fälle eine BRCA2-Mutation, dagegen bei weniger als 1 % eine BRCA1-Mutation vorliegt (26, 27). In Familien mit einem hohen BC-Risiko konnte eine BRCA2-Mutation bei 76 % der Fälle, eine BRCA1-Mutation dagegen

nur bei 16 % nachgewiesen werden (28). Bei Trägern des mutierten BRCA2-Gens besteht ein 6,8 % Lebenszeitrisiko an Brustkrebs zu erkranken, während es bei einer BRCA1-Mutation bei 1,2 % liegt (29). Im Vergleich zu der männlichen Allgemeinbevölkerung besteht bei einer BRCA2-Mutation ein um etwa 80 % erhöhtes relatives Risiko zu erkranken (30).

Moderate und niedrige Penetranz

Zu Genen mit moderater Penetranz, bei denen von einem moderat erhöhten BC-Risiko ausgegangen wird, gehören unter anderem CHEK2 (Checkpoint kinase 2) und PTEN (Phosphatase and Tensin homolog) (20, 31). Andere Gene wie Androgenrezeptor (AR), PALB2 (Partner and localizer of BRCA2) und CYP17 (Cytochrom P450 17) zeigen hingegen eine geringe Penetranz. Es ist unklar, inwiefern diese Gene zur Ätiologie eines MBC beitragen könnten (16, 32).

1.1.2.4 Gewicht

Adipositas führt zu einer abnormen endokrinen Stoffwechsellage. In mehreren Studien konnte ein höherer Body-Mass-Index (BMI: Körpergewicht in kg / (Körperlänge)² in m²) mit einem niedrigeren Hormonspiegel von Testosteron in Verbindung gebracht werden (33, 34). Das Enzym Aromatase, welches unter anderem im Fettgewebe vorhanden ist, metabolisiert peripher Testosteron zu Östrogen (35). Daher können die Spiegel am Gesamt- und freien Estradiol erhöht sein (33, 36), was ein höheres Risiko für die Entwicklung eines MBC darstellen kann (13, 37, 38). Bei einem BMI von über 30 kg/m² kann das Risiko ein MBC zu entwickeln um das Fünffache steigen (39). Weiterhin führt Adipositas zu einer erhöhten Mortalität an Brustkrebs (40).

1.1.2.5 Komorbiditäten

Das Klinefelter Syndrom ist definiert durch eine Chromosomenaberration mit mindestens einem überzähligen X-Chromosom (meistens 47XXY). Das Krankheitsbild umfasst Gynäkomastie, Hodendysgenese und Azoospermie bei niedriger Testosteronkonzentration (41–43). Das Risiko an MBC zu erkranken scheint um den Faktor 20 erhöht zu sein (44).

Obwohl Gynäkomastie ein Symptom des Klinefelter Syndrom ist und oft bei adipösen Patienten auftritt, konnte dies nicht als eindeutiger Risikofaktor für MBC identifiziert werden (45). Es ist jedoch möglich, dass durch Gynäkomastie ein MBC in der Mammographie maskiert wird, was zu einer verzögerten Diagnose führen kann (46).

1.1.2.6 Weitere Risikofaktoren

Als weitere Risikofaktoren wird eine vorherige endokrine Therapie mit Östrogenen zur Behandlung von Prostatakrebs angenommen (47). Darüber hinaus könnten Hodenhochstand, angeborene Leistenhernien, Mumps, Orchitis, Orchidektomien, Hitze (Stahlwerke, Hochöfen) und Stahlenbelastung zu einem erhöhten Risiko beitragen (38, 48–52). Außerdem scheint es einen Zusammenhang zwischen endemischen Lebererkrankungen (Hepatitis B und Bilharziose) und einem erhöhten MBC-Risiko zu geben (42). Rauchen, Packungsjahre und Alter bei Beginn des Tabakkonsums scheinen keinen Einfluss auf die Entstehung des Brustkrebs bei Männern zu haben (45, 53). Bei Frauen konnte dagegen ein geringer Einfluss des Rauchens gezeigt werden (HR: 1,06) (54).

1.1.3 Klinik

Das MBC präsentiert sich meist als schmerzloser Knoten innerhalb des Brustgewebes, der im Rahmen einer Selbstuntersuchung bemerkt wird (15, 55, 56). Zentral, subareolar ist die häufigste Lokalisation, gefolgt vom oberen äußeren Quadranten, der bei Frauen am häufigsten betroffen ist (15, 55–57). Möglicherweise lässt sich die zentrale Lokalisation auf das spärlich vorhandene Brustgewebe bei Männern zurückführen (55).

Häufig zeigen sich Symptome an der Brustwarze, auffallend können hierbei Blutungen, Ausfluss, Ulzeration, Retraktion oder Inversion der Brustwarze sein (55–57). Wenige Patienten werden auf Grund von Schmerzen vorstellig (55, 58). MBC tritt selten bilateral auf (0-2 %) und ist häufiger in der linken, als in der rechten Brust lokalisiert (15, 55, 56, 58).

Die Diagnose Brustkrebs wird bei Männern oft mit einer Verzögerung von 4 bis 6 Monaten gestellt (55, 56). Dies wird von verschiedenen Autor*innen auf ein fehlendes Bewusstsein für die Erkrankung zurückgeführt, was ein fortgeschrittenes Tumorstadium begünstigen kann (48, 57, 59).

1.1.4 Diagnose und Screening

Um den MBC zu diagnostizieren, werden die gleichen Methoden wie bei Frauen angewendet. Die wichtigsten nicht-invasiven Diagnoseverfahren sind Anamnese, klinische Untersuchung, Sonografie und Mammografie. Das NCCN empfiehlt Männern ab 35 Jahren eine Schulung zur Eigenuntersuchung der Brust sowie jährliche klinische Untersuchungen. Beim Vorliegen von Risikofaktoren, wie BRCA-Mutationen oder einer positiven Familienanamnese, wird eine jährliche Mammographie ab dem Alter von 50 Jahren empfohlen (17).

Bei der Mammografie zeigen sich maligne Veränderungen häufig als eine exzentrische Masse mit spikulierten, unregelmäßigen Rändern. Die Läsionen können jedoch auch rund, oval oder gelappt geformt sowie gut oder schlecht abgrenzbar sein (60, 61). Mikrokalzifikationen treten

beim MBC seltener auf, können aber ebenso auf Malignität hinweisen (46, 61). Durch Entzündungen, Gynäkomastie und Fettnekrosen sind falsch-positive Ergebnisse der Mammografie möglich (46, 62). Sie hat mit über 90 % aber eine hohe Sensitivität und Spezifität (51, 63, 64). Ein generelles Screening mittels Mammographie ist nicht empfohlen, da Brustkrebs bei Männern selten auftritt und mit der Palpation eine einfache Alternative zur Verfügung steht (59, 62).

Bei Männern unter 25 Jahren mit auffälligen Befunden in der körperlichen Untersuchung sollte zunächst eine Untersuchung mittels Sonographie durchgeführt werden (65). Hierbei zeigt sich ein maligner Befund oft als eine unregelmäßig begrenzte, hypoechogene Läsion mit akustischen Schallschatten und Hypervaskularisation (66). Es konnte gezeigt werden, dass die Sonographie vor allem bei dichtem Brustdrüsengewebe spezifischer als die Mammographie sein kann (63). Dies wurde bei Frauen ebenfalls gezeigt (67).

Eine Probenentnahme zur histologischen Sicherung suspekter Läsionen sowie des Hormonrezeptorstatus und des Gradings, wird invasiv über die Stanzbiopsie durchgeführt (68).

1.1.5 Pathologie

1.1.5.1 Hormonrezeptorstatus

Bei der Bewertung des Hormonrezeptorstatus werden der Östrogenrezeptor- α (ER- α), der Progesteronrezeptor (PR) und der HER2/neu-Rezeptor (human epidermal growth factor receptor 2) analysiert. ER und PR fallen bei Männern im Vergleich zu Frauen häufiger positiv aus. Ein positiver ER-Status besteht bei 90-99 % der Männer, verglichen mit 77-86 % der Frauen (11, 69–71). Beim Progesteronrezeptor sind 75-82 % der MBC-Fälle positiv, im Vergleich zu etwa 69-76 % des weiblichen BCs (11, 70, 71). Eine HER2/neu-Überexpression kann bei Männern bei 1,7-8,6 % der Fälle diagnostiziert werden (69, 72, 73), während es bei Frauen in bis zu 26 % zu einer Überexpression kommt (72). Bei weniger als 1 % kann ein triple-negativer Hormonrezeptorstatus diagnostiziert werden. Als triple-negativ gelten Mammakarzinome, die negativ auf ER, PR und HER2/neu getestet wurden (69). Es wird angenommen, dass das MBC dem Hormonrezeptor-positiven postmenopausalen BC der Frau ähnelt (74).

1.1.5.2 Histopathologische Typen

Das MBC wird, wie das Mammakarzinom bei Frauen, nach der WHO-Klassifikation eingeteilt. Das invasive Karzinom des nicht-spezialen Typs (invasive carcinoma of no special type, NST) umfasst mit 85-95 % den Hauptteil der Fälle (55, 75). Dieser Typ ist in der alten Nomenklatur als invasiv duktales Karzinom, nicht weiter spezifiziert bezeichnet worden. Seltene Unterformen sind das invasiv papilläre, medulläre, muzinöse und lobuläre Karzinom (69, 75). Der lobuläre Typ ist verglichen mit dem BC der Frau besonders selten, da terminale Drüsenläppchen

in der männlichen Brust nicht vorkommen. Bei Frauen findet sich dieser Typ bei etwa 12 %, bei Männern nur bei 1 bis 2 % der Fälle (60).

1.1.6 Staging

Es wird die gleiche TNM-Klassifikation wie bei Frauen angewendet.

Tabelle 1: TNM-Klassifikation, modifiziert nach S3-Leitlinie Mammakarzinom (68)

TNM-Klassifikation	
T = Ausdehnung des Primärtumors	
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor \leq 2 cm im größten Durchmesser
T2	Tumor $>$ 2 cm und \leq 5 cm im größten Durchmesser
T3	Tumor $>$ 5 cm im größten Durchmesser
T4	Tumor jeder Größe mit direkter Ausdehnung auf Brustwand oder Haut
N = Lymphknotenbefall	
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Metastasen in beweglichen ipsilateralen axillären Lymphknoten
N2	Metastasen in fixierten ipsilateralen axillären Lymphknoten oder entlang der A. mammaria interna ohne klinisch erkennbare axilläre Lymphknotenmetastasen
N3	Metastasen in ipsilateralen infra- oder supraklavikulären Lymphknoten, oder entlang der A. mammaria interna mit axillären Lymphknotenmetastasen
M = Metastasierung	
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen

1.1.7 Therapie

Da über die Therapie des MBC prospektive Studien weitestgehend fehlen, orientiert sich die Therapie an der von postmenopausalen Frauen (10, 68).

1.1.7.1 Operation

Der häufigste Eingriff bei der Behandlung des MBC ist die modifizierte radikale Mastektomie (Mastektomie mit Resektion von Areola, Mamille, Fettgewebe, Faszie der Brustmuskeln und axilläre Dissektion) (69). Bei der radikalen Mastektomie (mit Resektion des Musculus pectoralis) zeigten sich jedoch keine Vorteile im Gesamtüberleben (76). In frühen Tumorstadien kann eine brusterhaltende Therapie gleiche Überlebensraten wie die Mastektomie erzielen, bei besseren funktionellen und kosmetischen Ergebnissen (77, 78).

1.1.7.2 Lymphknotendiagnostik

Da das Mammakarzinom bei Männern später als bei Frauen diagnostiziert wird, können bei etwa 40 % der Fälle mehr als drei befallene Lymphknoten festgestellt werden (10). Bis vor ein paar Jahren wurde zur Erhebung des Lymphknotenstatus hauptsächlich eine axilläre Dissektion durchgeführt. Heute wird bei klinisch unauffälligen Lymphknoten eher die Sentinel-Node-Biopsie empfohlen. Bei dieser Methode kann der Lymphknotenstatus im Hinblick auf eine Metastasierung verlässlich erhoben werden und Nebenwirkungen einer Dissektion, wie beispielsweise Lymphödeme vermieden werden (79, 80).

1.1.7.3 Endokrine Therapie

Da ein überwiegender Anteil der MBC-Fälle Östrogenrezeptor (ER) positiv sind, wird am häufigsten eine adjuvante Therapie mit endokrin wirksamen Medikamenten durchgeführt. Das am häufigsten eingesetzte Mittel ist hierbei Tamoxifen (10, 51), das den Goldstandard bei ER-positivem Brustkrebs darstellt und auf der Liste der unentbehrlichen Arzneimittel der Weltgesundheitsorganisation (WHO) aufgeführt ist (81, 82). Es ist ein selektiver Östrogenrezeptor-Modulator (SERM), blockiert ER- α im Brustgewebe und wirkt in diesem Gewebe als Östrogen-Antagonist (42). Infolgedessen wird die Expression östrogenabhängiger Gene inhibiert und es werden weniger Wachstumsfaktoren und Angiogenesefaktoren durch den Tumor sezerniert (83). Patienten, die mit Tamoxifen behandelt werden, haben eine deutlich bessere Überlebenswahrscheinlichkeit und eine geringere Wahrscheinlichkeit für Rezidive (42, 84, 85). Diese prognoseverbessernde Wirkung von Tamoxifen bei Männern lässt sich mit den Ergebnissen von ER-positiven Frauen vergleichen (73, 83). Eine Tamoxifentherapie ist jedoch nur bei prä- und perimenopausalen Frauen indiziert (86). Alternativ können Aromataseinhibitoren gegeben werden, es wird aber berichtet, dass diese Medikamente bei Männern, im Hinblick auf das Gesamtüberleben, Tamoxifen signifikant unterlegen sind (73, 84).

1.1.7.4 Strahlentherapie

Indikationen für eine Strahlentherapie umfassen einen ausgedehnten Tumor, Befall der axillären Lymphknoten, Befall der Areola oder des Musculus pectoralis major, eine R1-Resektion sowie high grade Tumore und eine brusterhaltende Therapie (BET) (51). Durch die Strahlentherapie konnte teilweise ein Vorteil bei der Vermeidung von lokalen Rezidiven nachgewiesen, jedoch kein deutlicher Überlebensvorteil erzielt werden (87).

1.1.8 Prognose

Die wichtigsten Einflussgrößen auf die Prognose sind Tumorgröße, Lymphknotenstatus und Anzahl der befallenen Lymphknoten (88). Über alle Krankheitsstadien liegt die 5-Jahres-Überlebensrate (5-YSR) bei 74 bis 78 % (71, 89). Im Jahr 2006 wurde sie noch auf 40 bis 65 % geschätzt (51). Die beste Prognose hat das carcinoma in situ, die schlechteste das Stadium 4, mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von 90 % bzw. 16 % (89). Der Rezeptorstatus von ER und PR scheinen bei Männern im Gegensatz zu Frauen keinen Einfluss auf die Prognose zu haben. Die Daten zu HER2/neu sind nicht eindeutig, ein positiver Status könnte aber auf eine schlechtere Prognose hindeuten (5, 70, 90).

Generell scheinen Männer mit Brustkrebs eine schlechtere Prognose als Frauen zu haben. Dies ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass Männer zum Zeitpunkt der Erstdiagnose älter sind und ein weiter fortgeschrittenes Tumorstadium haben (32, 60). Es finden sich meist Tumorgrößen >2 cm und häufiger befallene axilläre Lymphknoten (74).

Bei an Alter, Lebenserwartung, Zeitpunkt der Diagnose und Stadium angepassten Überlebensraten, konnte jedoch keine schlechtere Prognose bei Männern gezeigt werden, teilweise sogar eine bessere (5, 87, 91). Es wird daher angenommen, dass sich die Prognose durch ein steigendes Bewusstsein für die Krankheit verbessern ließe. Zusätzlich müssten Selbstuntersuchungen verbreiteter sein und definierte Behandlungsrichtlinien erarbeitet werden (91). Ein weiterer Grund für eine reduzierte Überlebenswahrscheinlichkeit könnte sein, dass die adjuvante Tamoxifentherapie später als beim FBC eingeführt wurde und eine höhere Abbruchrate bei Männern aufgrund von Nebenwirkungen vorliegt (74).

Es besteht ein leicht erhöhtes Malignomrisiko für die kontralaterale Brust sowie weitere primäre Karzinome zu entwickeln. Es werden unter anderem Prostata-, Pankreas- und Kolonkarzinome als mögliche Entartungen aufgelistet (10, 92, 93). Besonders Prostata- und Pankreaskarzinome könnten sich durch mutiertes BRCA2 erklären lassen (93).

1.2 G-Protein-gekoppelter Östrogenrezeptor 1 (GPER-1)

1.2.1 Entdeckung und Struktur

Bereits seit 1960 bzw. 1997 sind Östrogenrezeptoren bekannt, die, aufgrund ihrer zeitlichen Entdeckung, als ER- α und ER- β bezeichnet werden (94, 95). Man nahm an, dass über ER, als Ligand-aktivierte Transkriptionsfaktoren, die Wirkung von Östrogenen vermittelt werden (96). Jedoch konnte dies nicht erklären, dass über Östrogene und andere Steroidhormone, ebenfalls schnelle, nicht-genomische Funktionen vermittelt werden (97).

Zwischen 1996 bis 1998 wurde in unabhängig voneinander durchgeführten Studien ein Rezeptor identifiziert, der zunächst als G-Protein-gekoppelter Rezeptor 30 (GPR30) bezeichnet

worden ist (98–100). Es handelte sich zunächst um einen sogenannten „Orphan Rezeptor“, da der Ligand des Rezeptors noch nicht identifiziert worden war (99). Das für den Rezeptor kodierende Gen konnte auf Chromosom 7p22.3 lokalisiert werden (98, 99). Es handelt sich um einen typischen G-Protein-gekoppelten Rezeptor mit sieben Transmembrandomänen (= 7 membranüberspannende Domänen) und einer Größe von 375 Aminosäuren (98, 100). Wie bei allen G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (GPCRs) befindet sich das Amino-Ende extrazellulär und das Carboxy-Ende intrazellulär, siehe Abb. 1 (101).

Es konnte gezeigt werden, dass Östrogen und Östrogenderivate spezifisch an GPR30 binden (102). Deshalb wurde GPR30 im Jahr 2007 von der International Union of Basic and Clinical Pharmacology in den G-Protein-gekoppelten Östrogenrezeptor (GPER) umbenannt (103).

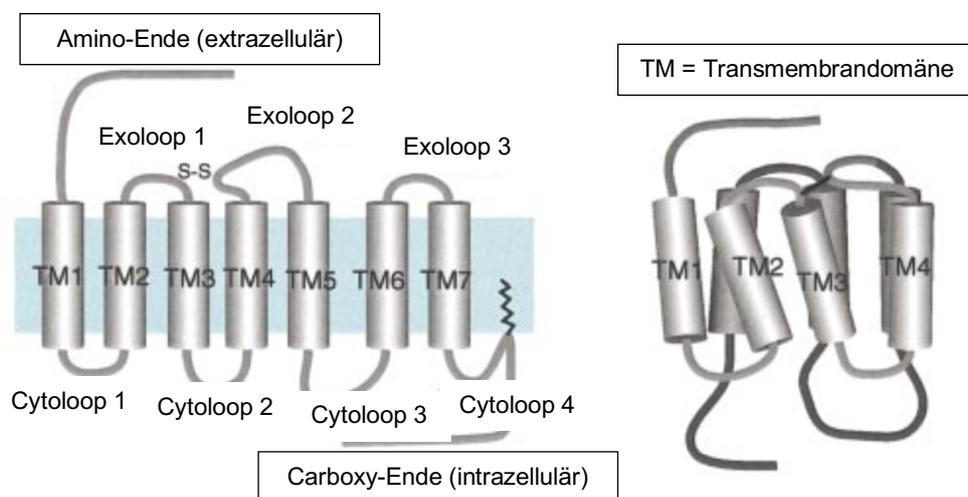


Abbildung 1: Graphische Darstellung der Topologie der GPCRs, modifiziert nach Ji et al. (101)

1.2.2 Lokalisation

Abgesehen vom Brustgewebe, konnte GPER-1 in fast jedem Organsystem nachgewiesen werden, beispielsweise in Herz, Gehirn und Leukozyten (104, 105). Es ist lange unklar gewesen, ob GPER-1 in der Plasmamembran lokalisiert ist oder intrazellulär exprimiert wird. Inzwischen geht man aber von einer vorwiegend intrazellulären Lokalisation aus, vor allem im Golgi Apparat oder im endoplasmatischen Retikulum (102, 106, 107). Dafür spricht auch, dass Östrogen membrangängig ist und keinen Rezeptor an der Zelloberfläche benötigt (105). Teilweise wurde aber auch eine Lokalisation im Nukleus beobachtet (108).

1.2.3 Funktion

Die Funktionen von GPER-1 sind vielfältig und umfassen schnelle nicht-genomische Funktionen sowie nachgeschaltete genomische Effekte wie Transkription und Zellproliferation (109). Die klassischen Östrogenrezeptoren und GPER-1 können agonistisch oder antagonistisch aufeinander wirken (105).

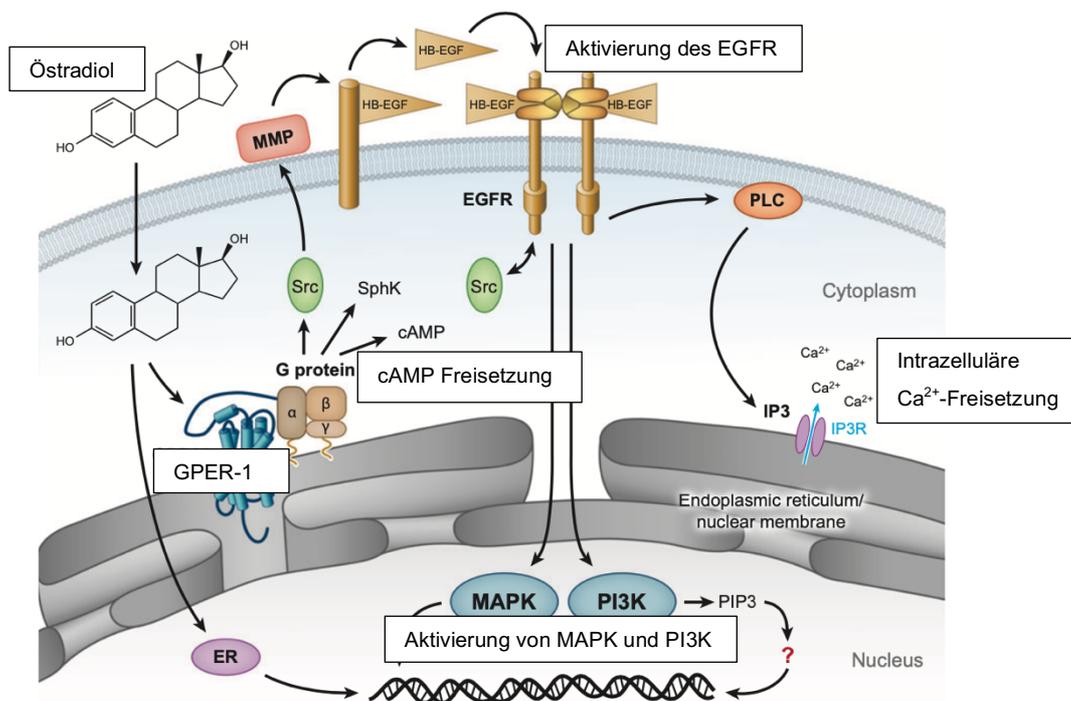


Abbildung 2: Signalwege von GPER-1, modifiziert nach Prossnitz et al. (109): Östradiol (E₂) bindet am intrazellulären GPER-1-Rezeptor. Dadurch werden Adenylylcyclasen aktiviert und cAMP produziert. Src aktiviert Matrix-Metalloproteinasen (MMP) wodurch der Heparin-bindenden epidermal growth factor (HB-EGF) aktiviert wird und somit auch der epidermal growth factor Rezeptor (EGFR). Über diesen Weg werden Calcium-Ionen aus dem ER ins Zytoplasma freigesetzt und die genomischen MAPK- und PI3K-Signalwege aktiviert.

Der Signalmechanismus über GPER-1 ist in Abbildung 2 dargestellt: Über die Bindung des permeablen Östradiol (E₂) an GPER-1 wird die Tyrosinkinase Src freigesetzt und die Adenylylcyclase aktiviert, wodurch cAMP produziert wird. Membranständige Metalloproteasen (MMP) werden durch Src aktiviert und aktivieren über den Heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF) den epidermal growth factor Rezeptor (EGFR). Dadurch können schnelle nicht-genomische Signalwege ausgelöst werden, wie die Freisetzung von Calcium (109). Hohe intrazelluläre Calcium-Konzentrationen spielen eine Rolle bei der Apoptose von Zellen (110). Es können auch nachgeschaltete Signalwege, wie der MAP-Kinase-Weg und der

PI3K/Akt-Signalweg, aktiviert werden, die zur Phosphorylierung und Aktivierung von Transkriptionsfaktoren führen (109). Der PI3K/Akt-Signalweg spielt eine Rolle bei der Regulation des Zellzyklus und der Entwicklung von Therapieresistenzen in Karzinomen (102, 111).

Durch die Aktivierung von EGFR und des PI3K-Signalweg wird vermutet, dass durch GPER-1 ER-negative Tumore Östrogen-sensibel bleiben (109). Es konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass über GPER-1 sowohl eine Aktivierung von Erk-1/-2- (Extracellular-Signal Regulated Kinases-1/-2), als auch eine -Inhibition unabhängig von den ER- α/β erfolgt (112, 113). Erk-1/-2 spielen ebenfalls eine Rolle bei der Kontrolle der Zellproliferation (114).

1.2.4 Einfluss auf Tumore, insbesondere Mammakarzinom

Der Einfluss auf die Tumorgenese ist derzeit nicht eindeutig geklärt und es gibt in der Literatur teilweise widersprüchliche Ergebnisse.

In der ER-negativen Brustzelllinie SkBr3 wurde beobachtet, dass sowohl der spezifische GPER-1-Agonist G-1 als auch E_2 die Expression des vaskulären endothelialen Wachstumsfaktors erhöhten und somit die Angiogenese und Tumorprogression begünstigten (115). Darüber hinaus wurde bei SkBr3-Zellen gezeigt, dass über den ER-Antagonisten und GPER-1-Agonisten Hydroxytamoxifen (OHT) Transkriptionsfaktoren induziert wurden, die das Gen CTGF (connective tissue growth factor) aktivierten. CTGF könnte durch die Förderung von Proliferation und Zellmigration eine Rolle bei der Tumorprogression spielen (116). In einer anderen Studie mit GPER-1-Knockout Mäusen wurde gezeigt, dass diese im Vergleich zu GPER-1-Wildtyp Mäusen kleinere Tumore, ein geringeres Grading in der Histologie sowie weniger Metastasen aufwiesen (117).

Im Gegensatz dazu wurde beobachtet, dass eine Aktivierung von GPER-1 über G-1 die Proliferation von SkBr3-Zellen *in vitro* signifikant hemmte. Zusätzlich wurde eine Induktion der Apoptose und eine erhöhte Expression des Tumorsuppressors p53 festgestellt (118). Dies steht im klaren Gegensatz zu der bereits genannten Studie von De Francesco et al. (115). In einer anderen Studie wurde gezeigt, dass die Aktivierung von GPER-1 das Wachstum von ER-positiven MCF-7-Zellen inhibierte, hingegen bei SkBr3-Zellen förderte (119). Dagegen konnte einer anderen Studie mit diesen beiden Zelllinien durch G-1 der Zellzyklus in der G2/M-Phase gestoppt sowie die Apoptose gefördert werden. Vergleichbare Ergebnisse konnten in den triple-negativen Zelllinien MDA-MB-231 und MDA-MB-468 beobachtet werden (120). In einer weiteren Studie mit MCF-7-Zellen wurde mittels G-1 die unfolded protein response (UPR) aktiviert, die den Zelltod fördert (121).

In Urothelzellen wurde festgestellt, dass sie hohe Mengen an GPER-1 exprimierten und dass sowohl E_2 als auch G-1 eine Hemmung der Zellproliferation bewirken konnten. Eine Hemmung

der GPER-1-Expression führte zu einer gesteigerten E_2 -induzierten Zellproliferation (122). Weitere Studien untersuchten die Auswirkung von G-1 auf Ovarialkarzinom-Zelllinien und es wurde gezeigt, dass G-1 hier die Zellproliferation unterdrückte und die Apoptose steigern konnte. Diese Ergebnisse sprechen eher dafür, dass eine Aktivierung von GPER-1 möglicherweise tumorsuppressive Effekte hatte (123, 124).

In klinischen Studien ist der Einfluss von GPER-1 ähnlich widersprüchlich. Eine Studie an 74 invasiven Karzinom NST ergab eine Korrelation zwischen einer GPER-1-Expression mit einer Tendenz für Rezidive (125). Eine andere Studie mit 333 invasiven Karzinomen NST und 40 duktales carcinoma in situ (DCIS) stellte fest, dass bei kleineren Tumoren oft keine GPER-1-Expression vorhanden war, was als Hinweis auf ein durch GPER-1 gefördertes Tumorstadium gedeutet wurde. Außerdem war eine GPER-1-Expression mit Metastasierung assoziiert (126). Eine weitere Studie untersuchte die Prognose von 742 postmenopausalen Brustkrebs-Patientinnen und kam zu dem Schluss, dass ER- und PR-positive und mit Tamoxifen behandelte Frauen eine deutlich schlechtere Prognose aufwiesen, wenn sie eine GPER-1-Expression an der Plasmamembran hatten (127). Dem steht eine Studie mit 442 Patientinnen mit invasivem Brustkrebs gegenüber, in der eine GPER-1-Expression mit einer verbesserten Überlebenschance und geringerem Grading in Verbindung gebracht wurde (128).

Eine erhöhte Expression von GPER-1 wurde in einer weiteren Studie als ein ungünstiger Faktor bei einer Langzeitbehandlung mit Tamoxifen identifiziert, da sie mit einem erniedrigten krankheitsfreien Überleben korrelierte (128). Aufgrund der agonistischen Wirkung von Tamoxifen auf GPER-1 könnte dies darauf hindeuten, dass GPER-1 bei der Entwicklung einer Tamoxifen-Resistenz eine wichtige Rolle spielt (128). Durch die Kombination aus Tamoxifen und dem GPER-1-Antagonisten G-15 wurde das Tumorstadium bei Tamoxifen-resistenten, ER-positiven MCF-7 Zellkulturen signifikant inhibiert (129).

1.2.5 Kritik

Neben den genannten widersprüchlichen Ergebnissen wird auch diskutiert, ob GPER-1 überhaupt *in vivo* Effekte hat. Luo et al. wiesen darauf hin, dass bei den durchgeführten *in vitro*-Studien Zelllinien verwendet wurden, die entweder GPER-1 überexprimierten oder keine klassischen ER exprimierten. Außerdem wären E_2 -Dosen verwendet worden, die weit über den physiologischen Konzentrationen lagen (130). Es wurde auch festgestellt, dass die Bindungsaffinität von E_2 zu GPER-1 (K_d : 3-6 nmol/L) im Vergleich zu den klassischen ER (0,1-1 nmol/L) deutlich niedriger war. Es wurde daher angezweifelt, ob GPER-1 bei physiologischen E_2 -Konzentrationen eine Rolle als E_2 -Mediator spiele.

Zusätzlich zu GPER-1 wurden weitere membranständige Östrogenrezeptoren entdeckt, die durch alternatives Splicen des Gens von ER- α gebildet werden können. Einer davon ist der 2005 identifizierte ER- α 36 (131). Dieser Rezeptor ist im Gegensatz zu den klassischen ER kleiner, mit einem Gewicht von 36 kDa statt 66 kDa. Er wird an der Plasmamembran und im Zytoplasma exprimiert und spielt eine Rolle bei der Vermittlung von schnellen nicht-genomischen Wirkungen der Östrogene. ER- α 36 wird in ER-positiven und ER-negativen Brustkrebszellen in hohem Maße exprimiert und könnte an der Entstehung von Tamoxifenresistenz und an der Aufrechterhaltung von Brustkrebs-Stammzellen beteiligt sein (132).

In einer Studie mit einer SkBr3-Zelllinie wurde gezeigt, dass GPER-1 die Expression von ER- α 36 aktivierte und dass ER- α 36 die nicht-genomische Aktivität von E₂ unabhängig von GPER-1 vermittelte (133). Außerdem wurde beobachtet, dass G-1 mit ER- α 36 interagiert und dessen Funktionen induziert. Daraus wurde gefolgert, dass nicht GPER-1, sondern ER- α 36 eine zentrale Rolle bei den nicht-genomischen Wirkungen von Östrogen spielte. GPER-1 würde lediglich die ER- α 36 Expression induzieren und könnte somit als indirekter Faktor an den Funktionen von ER- α 36 beteiligt sein.

In einer Studie mit GPER-1-defizienten Mäusen konnten keine Abnormalitäten in den reproduktiven Organen festgestellt werden und die Mäuse blieben reproduktionsfähig (134). In derselben Studie wurde auch gezeigt, dass die Abwesenheit von GPER-1 keinen Einfluss auf die Effekte von E₂ im Uterus und der Brustdrüse hatte, weshalb die Autor*innen den Einfluss von GPER-1 als ER *in vivo* anzweifeln. Es existieren auch mehrere klinische Studien, die keinen Einfluss einer GPER-1-Expression auf die Überlebenswahrscheinlichkeit feststellen konnten. Beispielsweise eine Studie über 118 Patientinnen mit invasivem Karzinom NST (135) und eine Studie über 42 Patientinnen mit Ovarialkarzinom (136).

1.3 Ziel der Arbeit

Aufgrund der Seltenheit der Erkrankung ist über das Mammakarzinom bei Männern (MBC) noch vieles unklar. Insbesondere über zellbiologische und biochemische Unterschiede oder Gemeinsamkeiten zum Brustkrebs bei Frauen ist nicht viel bekannt.

In dieser Arbeit soll die Bedeutung der GPER-1-Expression auf die Überlebens- und die Rezidivwahrscheinlichkeit beim MBC untersucht werden. Die Null-Hypothese dieser Arbeit lautet daher: GPER-1 hat keinen signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben und die rezidivfreie Zeit beim Mammakarzinom bei Männern.

Hierzu wurde die Expression von GPER-1 bei MBC-Tumoren immunhistochemisch untersucht und mit klinischen Daten korreliert.

Weitere Fragestellungen:

Kann man Unterschiede oder Zusammenhänge zwischen dem GPER-1-Status und patientenbezogenen Charakteristika feststellen?

Können weitere klinisch-pathologische Risikofaktoren gefunden werden, die die Überlebens- und Rezidivwahrscheinlichkeit in Kombination mit GPER-1 beeinflussen?

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Patientenkollektiv

Diese Registerstudie, registriert unter der Nummer DRKS00009536 im Deutschen Register Klinische Studien (DRKS), wurde von der Abteilung für Frauenheilkunde, Geburtshilfe und Reproduktionsmedizin der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg erstellt und durch die Ethikkommission am 08.09.2009 bewilligt (137). Die Datenbank ist am 21.04.2009 erstellt worden und wird fortlaufend aktualisiert. Bis zum 29.07.2018 wurden die Daten von 563 Patienten aus 121 Kliniken gesammelt, die letzte Aktualisierung für diese Arbeit fand im Mai 2020 statt. Alle Patientendaten wurden anonymisiert übermittelt und umfassten Patienten über 18 Jahren, die an primärem Brustkrebs erkrankt sind.

Aus 41 Brustkrebszentren wurden 175 Tumorblöcke an die Klinik für Frauenheilkunde, Geburtshilfe und Reproduktionsmedizin übermittelt. Diese wurden dem Institut für Pathologie zur Verfügung gestellt. Die Proben konnten 168 Patienten zugeordnet werden, wobei sieben Schnitte nicht weiter verwertet werden konnten. Bei sechs Patienten wurden zwei und bei einem Patienten drei Proben übermittelt. Die GPER-1-Ergebnisse dieser Proben wurden durch Mittelwertbildung berechnet. Am Ende konnten die Daten von 161 Patienten mit primärem Brustkrebs in die Analysen einbezogen werden (siehe Abb. 3).

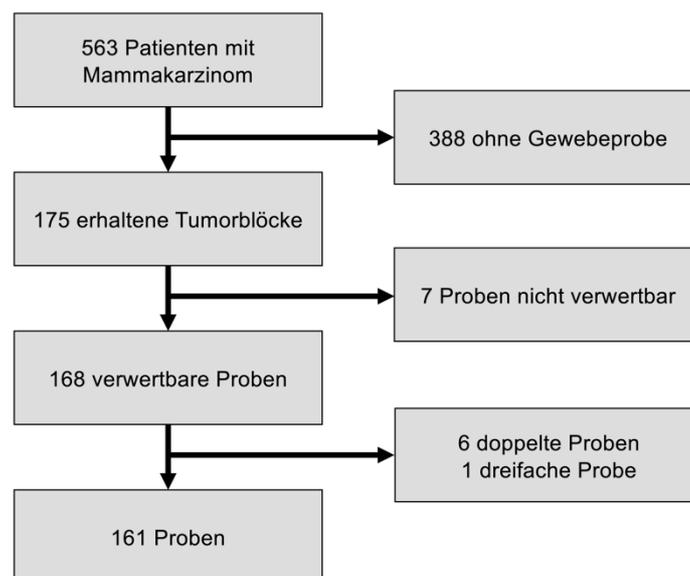


Abbildung 3: Organigramm zu den eingeschlossenen Patienten dieser Studie

2.1.2 Patientendaten

Die Patientencharakteristika umfassten Alter bei Erstdiagnose, Größe, Gewicht sowie vorherige maligne Erkrankungen. Es wurde eine Familienanamnese hinsichtlich Krebserkrankungen und dem Verwandtschaftsgrad der Familienmitglieder erhoben. Aus den Patientendaten wurde erfasst, ob eine Ablatio mammae oder eine brusterhaltende Therapie (BET) durchgeführt wurde. Außerdem wurde erhoben, ob eine Axilladissektion, eine Sentinel-Node-Biopsie (SNB) oder beide Verfahren durchgeführt wurden. Es wurde die Anzahl an befallenen Lymphknoten sowie befallene Sentinel-Lymphknoten dokumentiert. Weiterhin wurde erfasst, ob eine endokrine Therapie und eine Strahlentherapie durchgeführt wurden.

Die Tumore wurden gemäß der TNM-Klassifikation eingestuft (siehe Tab. 1). Histopathologisch wurden sie in das invasive Karzinom NST, das duktales carcinoma in situ (DCIS) und seltene Formen, wie das invasiv lobuläre Karzinome, das Adenokarzinom, das kribriforme und das muzinöse Karzinom differenziert (siehe Tab. 20). Von 147 Patienten wurden die histopathologischen Typen übermittelt. Die Informationen zu 14 Patienten fehlten und wurden nachträglich am Institut für Pathologie in Magdeburg bestimmt. Diese Angaben wurden anschließend in die Analysen einbezogen, obwohl sie in der ursprünglichen Datenbank fehlten.

Der Status der Hormonrezeptoren von Östrogenrezeptor (ER), Progesteronrezeptor (PR) und HER2/neu wurden erhoben. ER und PR galten bei $>1\%$ der Tumorzellen als positiv. Ein positiver HER2/neu-Status lag bei einem Wert ≥ 3 in der c-erbb2-Färbung oder bei Amplifikation in der FISH (Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung) vor (68). Anhand dieser Informationen wurde bestimmt, ob ein triple-positiver oder ein triple-negativer Hormonrezeptorstatus vorlag. Die fehlenden Angaben zum ER/PR-Status konnten bei zehn Präparaten am Institut für Pathologie in Magdeburg nachträglich bestimmt werden, während die fehlenden Angaben des HER2/neu-Status von 33 Patienten am Klinikum Dessau (P. Czapiewski) bestimmt wurden. Die Ergebnisse wurden in die Analysen einbezogen. Bei einem Patienten konnte der ER-Status und bei einem anderen Patienten der HER2/neu-Status dennoch nicht bestimmt werden.

In den Nachbeobachtungsuntersuchungen, die alle sechs Monate stattfanden und bis zu fünf Jahre durchgeführt wurden, wurden Informationen zu Lokalisation und Datum eines möglichen Rezidivs sowie bei Todesfällen jeweils Informationen zum Todesdatum und der Ursache gesammelt. Die Evaluation umfasste auch die Fortsetzung der endokrinen Therapie sowie das Auftreten von Nebenwirkungen. Der Zeitraum des rezidivfreien Überlebens wurde von der Erstdiagnose des MBC bis zum Wiederauftreten eines Lokalrezidivs oder einer Metastase berechnet. Lokalrezidive wurden als solche in der ipsilateralen Brust, Brustwand und in regionalen Lymphknoten definiert, während Fernmetastasen als solche in entfernten Lymphknoten,

Knochen, Gehirn, Leber, Lunge und anderen Organen, wie Peritoneum, galten. Der Überlebenszeitraum wurde von der Erstdiagnose bis zum Todeszeitpunkt der Patienten erfasst und das individuelle Ende der Beobachtungszeit wurde dokumentiert.

2.2 Methoden

Die Tumorgewebe waren Formalin-fixiert und in Paraffin eingebettet. Diese Gewebelöcke wurden in Schnitte von 3 µm Dicke geschnitten, auf SuperFrost Plus Glasobjektträger (Menzel, Braunschweig, Deutschland) aufgezogen und über Nacht getrocknet.

Die Immunhistochemie wurde mit einem Benchmark XT (Ventana Medical Systems Deutschland GmbH, heute Roche Diagnostics International AG, Rotkreuz, Schweiz) durchgeführt. Etwa 30 Schnitte konnten in einer Charge gefärbt werden. Eine Brustkrebsprobe mit bekanntem histochemischem Ergebnis wurde als Positivkontrolle in jeder Charge eingesetzt.

Die Präparate wurden zunächst in einer EZprep-Lösung (Roche Diagnostics International AG) bei 75 °C und 76 °C für jeweils 4 Minuten deparaffiniert. Die Antigene der Gewebeproben wurden durch eine 12-minütige Inkubation mit Protease 1 (alkalische Protease) demaskiert. Anschließend wurden die Präparate mit einem polyklonalen Antikörper (Acris Antibodies, Herford, Deutschland) gegen GPER-1 für 32 Minuten bei 37 °C inkubiert, wobei der Antikörper im Verhältnis 1:500 (150 µl pro Slide) verdünnt war. Die Reaktion wurde durch eine 8-minütige Inkubation mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB detection kit, Roche Diagnostics International AG) sichtbar gemacht. Danach wurden die Objektträger mit Hämatoxylin gegengefärbt und mit einem Eindeckmedium und Deckgläschen abgedeckt.

Die Bewertung der Brustkrebsfärbungen wurde lichtmikroskopisch durchgeführt. Die Färbungsausdehnung (staining extensity) und die Färbungsintensität (staining intensity) wurden von zwei Patholog*innen aus Magdeburg bzw. Innsbruck (S. Sprung, P. Czapiewski) beurteilt. Die beurteilenden Patholog*innen waren nicht über die klinisch-pathologischen Merkmale der Patienten informiert.

Der immunreaktive Gesamtwert (immunoreactive score) wurde in Anlehnung an Remmele und Stegner (138) über Multiplikation der Färbungsausdehnung und der Färbungsintensität berechnet (siehe Tab. 2). Dieses semiquantitative Verfahren wurde bereits mehrfach am Institut für Pathologie angewendet (123, 139–141). Der immunreaktive Gesamtwert konnte die Werte 0, 1, 2, 3, 4, 6, 9 annehmen.

Histologische Bilder der Schnitte wurden mithilfe des Hamamatsu Nanozoomer S360 erstellt und mit der Software NanoZoomer Digital Pathology NDP.view2 (U12388-01, Hamamatsu, Japan, 2018) betrachtet. Repräsentative Abbildungen sind in der Skalierung 50 bzw. 500 µm in Abbildung 4 und 5 gezeigt.

Tabelle 2: Bewertung der Färbungsausdehnung und der Färbeintensität nach IRS

Immunreaktiver Score (IRS)			
Färbungsausdehnung % positive Zellen		Färbungsintensität	
<10 %	1 Punkt	Keine Färbereaktion	0 Punkte
10-50 %	2 Punkte	Schwache Intensität	1 Punkt
>50 %	3 Punkte	Mäßige Intensität	2 Punkte
		Starke Intensität	3 Punkte

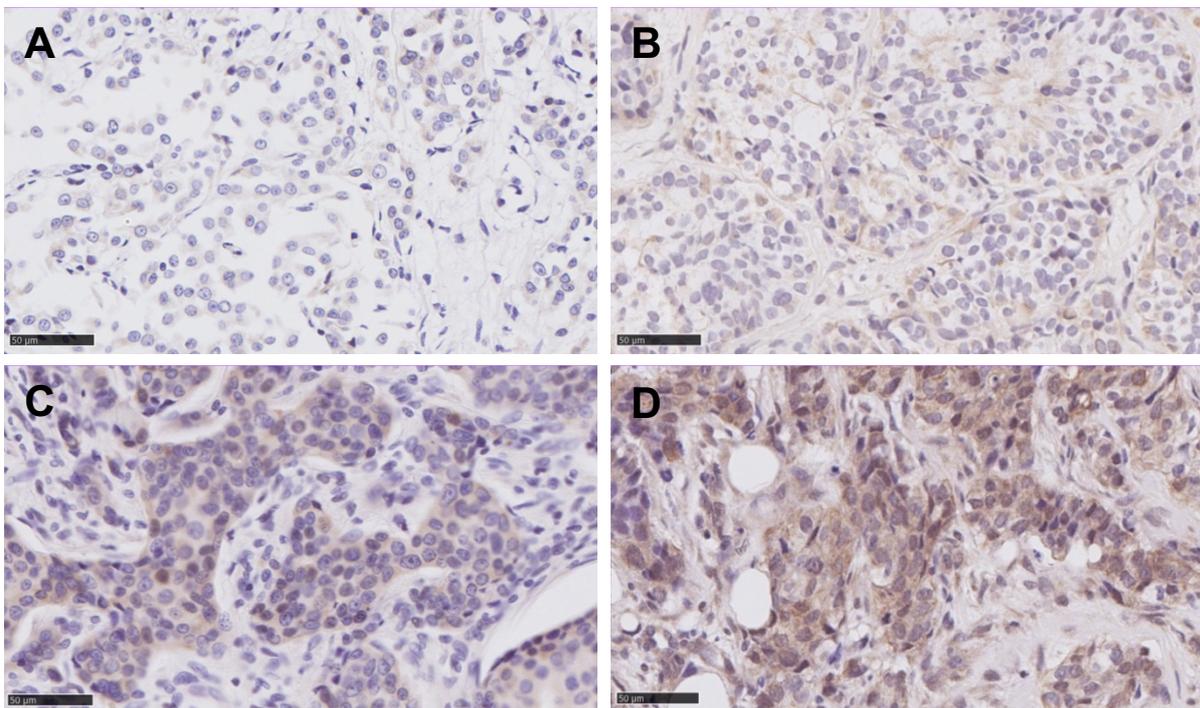


Abbildung 4: Repräsentative Bilder der GPER-1-Färbungsintensität: A keine Färbereaktion, B schwache Intensität, C mittlere Intensität und D starke Intensität
Maßstab: 50 µm

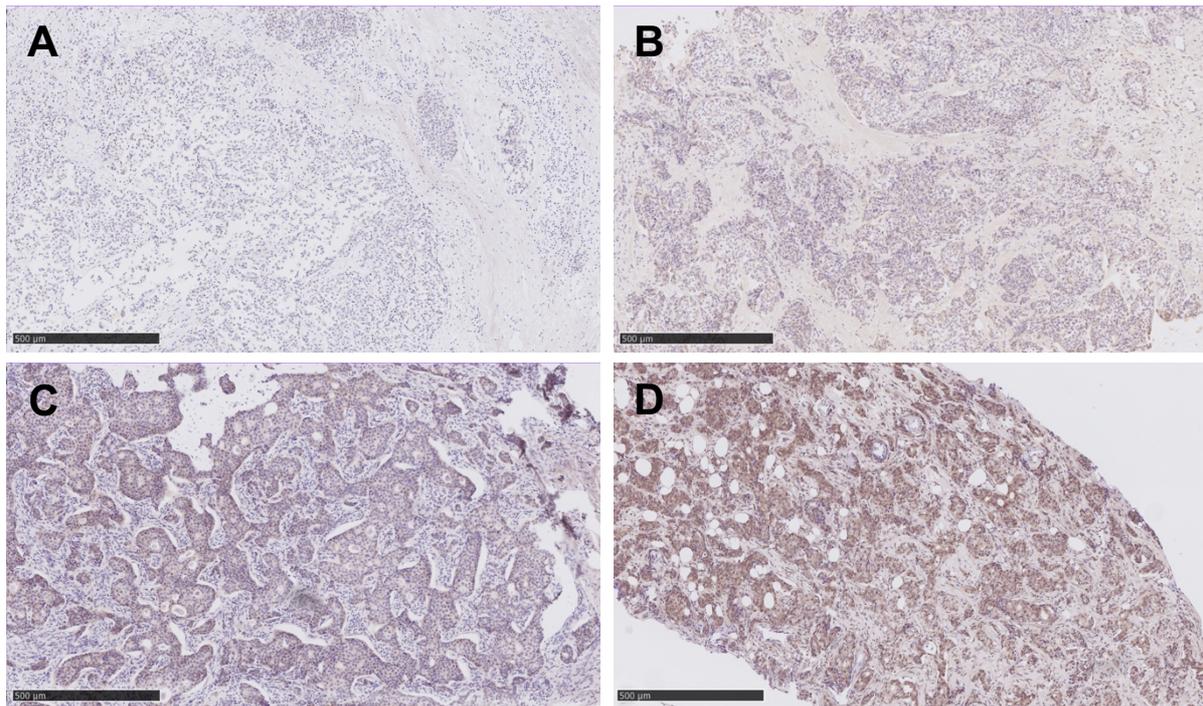


Abbildung 5: Repräsentative Bilder der GPER-1-Färbungsintensität: A keine Färbereaktion, B schwache Intensität, C mittlere Intensität und D starke Intensität
Maßstab: 500 µm

2.3 Statistische Auswertung

Die Patientendaten wurden anonymisiert in einer Microsoft Access Datei am Institut für Frauenheilkunde der Otto-von-Guericke-Universität gespeichert und für die Datenverarbeitung als Microsoft Excel-Dateien exportiert. Die statistischen Berechnungen wurden in IBM SPSS (Version 26.0 für Microsoft Windows bzw. SPSS Statistics Subscription für Apple Mac-OS) durchgeführt. Die Programmierung von Computerskripten erfolgte durch D. Schomburg in der Programmiersprache R (<https://www.R-project.org>).

Zur Beschreibung der Patientencharakteristika wurden deskriptive Statistiken, wie Median, Interquartilsabstand (IQR), Standardabweichung (SD), arithmetischer Mittelwert, Maximum, Minimum sowie Bereich verwendet. Die erhobenen Patientenmerkmale umfassten Alter bei Erstdiagnose, Größe, Gewicht, BMI sowie Familienanamnese bezüglich Malignome. Der BMI der Patienten wurde aus dem Quotienten von Körpergewicht in kg geteilt durch (Körperlänge)² in m² berechnet.

Die deskriptive Statistik wurde für die beiden GPER-1-Gruppen (GPER-1-positiv: IRS ≥ 4 und GPER-1-negativ: IRS < 4) unabhängig voneinander berechnet. Zur Analyse der Verteilung ordinaler Variablen wurde der Chi-Quadrat-Test nach Pearson oder der Exakte Test nach Fisher verwendet. Unterschiede in den Mittelwerten skaliertter Variablen wurden mit dem t-Test für unabhängige Stichproben bestimmt. Für die Korrelation von ordinalen Variablen wurde der

Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman verwendet, auch Spearman's-Rho genannt. Der jeweils angegebene Koeffizient Rho (ρ) misst die Stärke der Beziehung zwischen den Variablen, wobei 1 eine perfekte positive und -1 eine perfekte negative Korrelation kennzeichnet.

Der Beginn der Nachbeobachtungszeit wurde anhand des Zeitpunkts der Erstdiagnose festgelegt. Das Gesamtüberleben wurde definiert als Zeit zwischen der Erstdiagnose und dem Tod. Die rezidivfreie Zeit wurde als Zeit zwischen der Erstdiagnose und dem Auftreten eines Rezidivs oder einer Metastase definiert. Die Patienten, bei denen bis zum letztmaligen Nachbeobachtungstermin von 60 Monaten kein Rezidiv oder der Tod aufgetreten war, wurden zu diesem Zeitpunkt zensiert. Zensiert wurden außerdem alle Patienten, die nicht zu ihren Nachbeobachtungsterminen erschienen sind. Das Gesamtüberleben und die rezidivfreie Zeit wurden mittels Kaplan-Meier Methode berechnet und mithilfe des Log-Rank-Tests auf Signifikanz geprüft. Es wurden außerdem die 5-Jahres-Überlebensraten bestimmt. Die Parameter wurden ergänzend über die univariable Cox-Regression auf eine signifikante Korrelation überprüft. In der multivariablen Cox-Regression wurde die Assoziation der GPER-1-Expression mit den Variablen Alter bei Erstdiagnose, Tumorgröße, Lymphknotenstatus und Adipositas hinsichtlich einer Signifikanz für die Überlebenswahrscheinlichkeit untersucht.

Es wurde im Allgemeinen festgelegt, dass das Signifikanzniveau 5 % betragen soll ($p < 0,05$), um die Nullhypothese zu verwerfen. Ein statistischer Trend wurde als gegeben definiert, wenn $p < 0,1$ war. Die erhaltenen Daten wurden mittels Tabellen, Histogrammen, Kreisdiagrammen und Kaplan-Meier-Überlebens-Kurven grafisch dargestellt.

3 Ergebnisse

3.1 Aufteilung des Patientenkollektivs

Die Proben von insgesamt 161 Patienten konnten für die Analysen genutzt werden. Um die Messung des GPER-1 als positiv zu bewerten, wurde ein Schwellenwert des IRS von ≤ 4 festgelegt, der durch den Minimal-p-Wert-Ansatz bestimmt wurde. Um einen Typ-I Fehler zu minimieren wurde anschließend ein Permutationstest durchgeführt, um den p-Wert zu korrigieren (142). Es ergaben sich zwei Gruppen, die erste mit GPER-1-positivem- (n = 65, 40,4 %) und die zweite mit GPER-1-negativem-Status (n = 96, 59,6 %, siehe Tab. 3 und Abb. 6). Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) bzw. statistische Trends ($p < 0,1$) der jeweils durchgeführten Tests (siehe statistische Auswertung) wurden in den Tabellen fett markiert.

Tabelle 3: GPER-1-Score und Aufteilung in GPER-Positiv und GPER-Negativ

GPER-1-Score	Anzahl n	Anteil %
0	41	25,5
2	39	24,2
3	16	9,9
4	12	7,5
6	40	24,8
9	13	8,1
Gesamt	161	
GPER-1 ≥ 4	Anzahl n	Anteil %
ja	65	40,4
nein	96	59,6

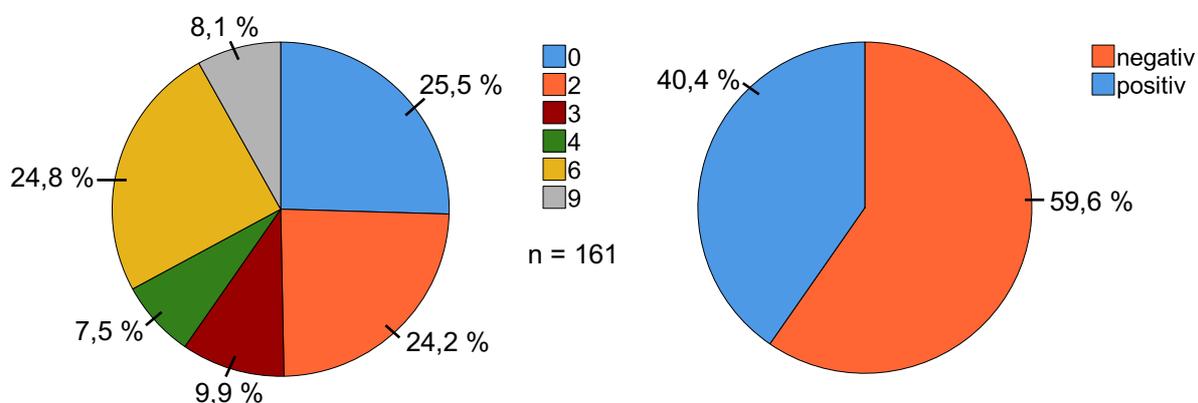


Abbildung 6: Verteilung der Patienten anhand des IRS und Aufteilung der Patienten in GPER-1-positiv und -negativ

3.2 GPER-1-Expression

3.2.1 Nachbeobachtungsuntersuchungen (Follow-up)

Anhand der vorhandenen Daten der sechsmonatigen Nachbeobachtungsuntersuchungen und des Alters der Patienten bei Erstdiagnose, konnte die Überlebens- und die rezidivfreie Zeit bei 150 Patienten berechnet werden. Im Median betrug die Zeit 208,9 (Interquartilsabstand (IQR): 143,2 - 262,7) Wochen, mit einem Minimum von 15 und einem Maximum von 319 Wochen. Der Vergleich der beiden GPER-1-Kohorten ergab keinen signifikanten Unterschied der erwarteten Häufigkeitsverteilung bezüglich des Beobachtungszeitraums ($p = 0,299$, siehe Tab. 4). Der durchschnittliche Beobachtungszeitraum für GPER-1-positiven-Patienten betrug 204,8 (SD: $\pm 69,6$) Wochen und für GPER-1-negative-Patienten 192,4 (SD: $\pm 73,5$) Wochen.

Tabelle 4: Beobachtungszeitraum in Wochen und Vergleich der Mittelwerte zwischen den GPER-1-Gruppen über den t-Test

Beobachtungszeit- raum [Wochen]	Alle	GPER-1 positiv	GPER-1 negativ	p
Median	208,9	215,6	206,3	
IQR	143,2 - 262,7	161,2 - 264,3	138,9 - 262,0	
Mittelwert + SD	197,5 \pm 72,0	204,8 \pm 69,6	192,4 \pm 73,5	0,299
Bereich	15 - 319	36 - 300	15 - 319	
Gesamt	150	61	89	
Fehlend	11	4	7	

3.2.2 Überlebens- und Rezidivrate

Insgesamt sind 27 Patienten im Beobachtungszeitraum (18,0 %) verstorben. Ein vollständiger Nachbeobachtungszeitraum von 60 Monaten oder bis zum Tod lag bei 44,7 % ($n = 72$) der Patienten vor. Ein Beobachtungszeitraum von mindestens 48 Monaten lag bei 55,9 % ($n = 90$) der Patienten vor. Die Gruppe der GPER-1-positiven Patienten zeigte eine geringere Sterblichkeitsrate ($n = 6$, 9,8 %) im Vergleich zu den GPER-1-negativen Patienten ($n = 21$, 23,6 %). Die Analyse mittels Exaktem Test nach Fisher zeigte einen signifikanten Unterschied der erwarteten Häufigkeitsverteilung zwischen den beiden Gruppen ($p = 0,033$) zwischen GPER-1-Status und dem Auftreten von Todesereignissen. Zwischen Rezidiven und dem GPER-1-Status konnte kein Zusammenhang gefunden werden (Exakter Test nach Fisher: $p = 0,830$, siehe Tab. 5).

Tabelle 5: Zusammenhang der verstorbenen Patienten bzw. aufgetretenen Rezidive mit GPER-1-Expression; Ergebnisse des Exakten Tests nach Fisher

Verstorben	Alle		GPER-1 positiv		GPER-1 negativ		p
	n	%	n	%	n	%	
Ja	27	18,0	6	9,8	21	23,6	
Nein	123	82,0	55	90,2	68	76,4	
Gesamt	150		61		89		0,033
Fehlend	11		4		7		

Rezidiv	Alle		GPER-1 positiv		GPER-1 negativ		p
	n	%	n	%	n	%	
Ja	26	17,3	10	16,4	16	18,0	
Nein	124	82,7	51	83,6	73	82,0	
Gesamt	150		61		89		0,830
Fehlend	11		4		7		

Die Analyse mittels der Kaplan-Meier-Kurve ergab, dass Patienten mit einem GPER-1-Wert ≥ 4 eine signifikant verbesserte Überlebensrate aufwiesen ($p = 0,029$; 5-YSR = 86,6 %). Basierend auf der Aufteilung des Patientenkollektivs nach dem minimal-p-approach wurde eine weitere Untersuchung durch einen Permutationstest mit 10.000 Daten durchgeführt. Es konnte nach dieser Anpassung kein signifikanter Unterschied mehr in der Kaplan-Meier-Analyse festgestellt werden ($p = 0,109$, siehe Tab. 6 und Abb. 7). Das Ergebnis der univariablen Cox-Regression zeigte mit dem optimierten Schwellenwert ebenfalls einen signifikanten Einfluss von GPER-1 auf das Gesamtüberleben ($p = 0,036$, siehe Tab. 8).

In Bezug auf die Rezidivrate konnte kein signifikanter Unterschied in der Häufigkeitsverteilung zwischen den GPER-1-Gruppen festgestellt werden ($p = 0,830$, siehe Tab. 7 und Abb. 8). Die Ergebnisse der Kaplan-Meier-Analyse und der Cox-Regression zeigten keinen signifikanten Unterschied im rezidivfreien Überleben zwischen den beiden Gruppen ($p = 0,637$ bzw. $p = 0,638$, siehe Tab. 8).

Tabelle 6: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach GPER-1

GPER-1	Gesamtüberleben [Wochen]				5-YSR ^{&} [%]
	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	
Positiv (≥ 4)	281,6	7,3	267,3 - 295,9	0,109 ^{&}	86,6
Negativ (< 4)	265,7	10,1	246,0 - 285,5		72,0

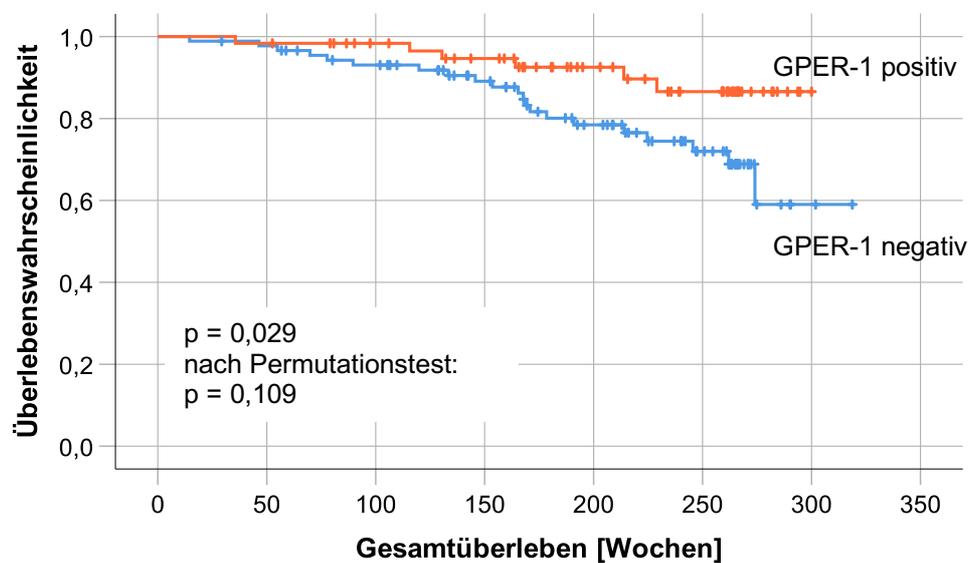
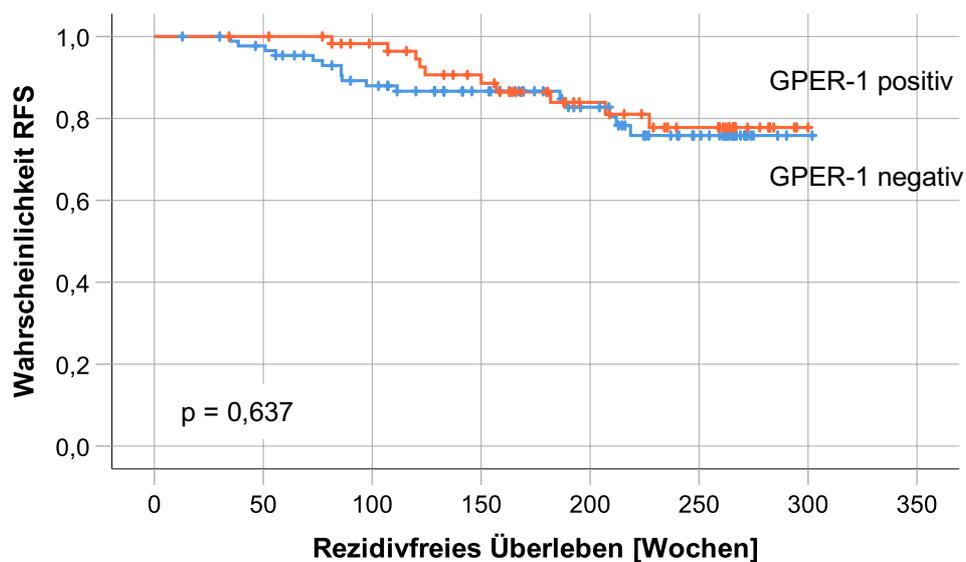
[&]unangepasst: $p = 0,029$; nach Permutationstest: $p = 0,109$; %5-YSR = 5-Jahresüberlebensrate

Tabelle 7: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach GPER-1

GPER-1	Rezidivfreie Zeit [Wochen]				5-RFS [%]
	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	
Positiv (≥ 4)	268,2	9,1	250,3 - 286,1	0,637	77,8
Negativ (< 4)	260,8	9,3	242,6 - 278,9		75,8

Tabelle 8: Ergebnisse der unvariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf GPER-1-Expression

Cox-Regression	Gesamtüberleben			Rezidivfreies Überleben		
	p	HR	95 %-CI	p	HR	95 %-CI
GPER-1-Expression	0,036	0,379	0,153 - 0,940	0,638	0,827	0,375 - 1,823

**Abbildung 7:** Kaplan-Meier Kurve der Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit von der GPER-1 Expression (IRS ≥ 4)**Abbildung 8:** Kaplan-Meier-Kurve des rezidivfreien Überlebens in Abhängigkeit von der GPER-1 Expression (IRS ≥ 4)

3.3 Klinisch-pathologische Ergebnisse

3.3.1 Ätiologie und Risikofaktoren

3.3.1.1 Alter

Das Alter bei Erstdiagnose wurde aus den Geburtsdaten und den Daten der Erstdiagnose bzw. den Daten der Registrierung berechnet. Das mittlere Alter bei Erstdiagnose betrug 65,9 Jahre (SD: $\pm 12,8$; Median: 67,0; IQR: 58,3 - 74,8 Jahre, siehe Tab. 9 und Abb. 9). Über den t-Test wurde ein statistisch signifikanter Unterschied in den Mittelwerten bezüglich der GPER-1 Expression ermittelt ($p = 0,041$). Das mittlere Alter bei Erstdiagnose lag bei den GPER-1-positiven Patienten (63,3 Jahre, SD: $\pm 14,1$) etwa vier Jahre unter dem der GPER-1-negativen Patienten (67,6 Jahre, SD: $\pm 11,7$).

Tabelle 9: Alter bei Erstdiagnose [Jahre] und Vergleich der Mittelwerte zwischen den GPER-1-Gruppen über den t-Test

Alter bei Erstdiagnose [Jahre]	Alle	GPER-1 positiv	GPER-1 negativ	p
Median	67,0	66,0	68,0	
IQR	58,3 - 74,8	54,0 - 74,0	60,0 - 75,8	
Mittelwert \pm SD	65,9 \pm 12,8	63,3 \pm 14,1	67,6 \pm 11,7	0,041
Bereich	26 - 93	26 - 86	37 - 93	
Gesamt	160	64	96	
Fehlend	1	1	0	

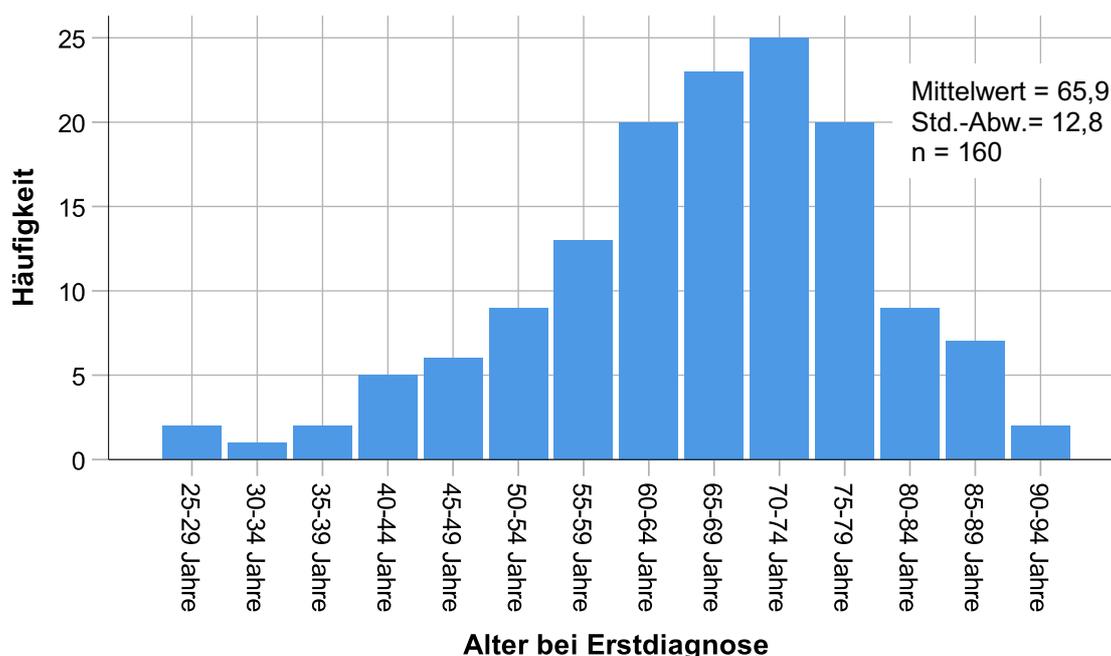


Abbildung 9: Alter bei Erstdiagnose in Abschnitten von 5 Jahren

Für die Auswertung wurden die Patienten in Altersgruppen mit Abschnitten von zehn Jahren unterteilt. Es ergaben sich acht Altersgruppen von 20 - 29 bis 90 - 99 Jahren. In den verschiedenen Altersgruppen fielen die meisten Patienten in die Jahre 60 bis 69 ($n = 43$, 29,9 %) sowie 70 bis 79 ($n = 45$, 31,2 %). Der Chi-Quadrat-Test zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den zwei Gruppen bezüglich der Häufigkeitsverteilung in den verschiedenen Altersgruppen ($p = 0,256$, siehe Tab. 10). Der Rangkorrelationstest nach Spearman zeigte keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Erkrankungsalter und der GPER-1-Gruppenzugehörigkeit über alle Altersgruppen hinweg (Rho: -0,076, $p = 0,337$).

Tabelle 10: Zusammenhang zwischen Altersgruppen und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests und des Spearman's Rho-Korrelationskoeffizienten

Altersgruppen	Alle		GPER-1 positiv		GPER-1 negativ		p	Spearman's ^{&}	
	n	%	n	%	n	%		Rho	Sig.
20-29 Jahre	2	1,3	2	3,1	0	0			
30-39 Jahre	3	1,9	1	1,6	2	2,1			
40-49 Jahre	13	8,1	8	12,5	5	5,2			
50-59 Jahre	24	15,0	10	15,6	14	14,6			
60-69 Jahre	51	31,9	17	26,6	34	35,4			
70-79 Jahre	48	30,0	21	32,8	27	28,1			
80-89 Jahre	17	10,6	5	7,8	12	12,5			
90-99 Jahre	2	1,3	0	0	2	2,1			
Gesamt	160		64		96		0,256	-0,076	0,337
Fehlend	1		1		0				

[&]Alter bei Erstdiagnose direkt für die Berechnung verwendet, keine Aufteilung in Altersgruppen

Anhand der Kaplan-Meier-Methode zeigte sich ein marginal signifikanter Unterschied in der Wahrscheinlichkeit des Gesamtüberlebens beim Vergleich des Alters bei Erstdiagnose ($p = 0,048$, siehe Tab. 11). Im Gegensatz dazu hatte das Alter bei Erstdiagnose keinen signifikanten Einfluss auf das rezidivfreie Überleben ($p = 0,192$, siehe Tab. 12). Da der Mittelwert des Alters bei Erstdiagnose bei 65,9 Jahren lag, wurden die Patienten in eine Gruppe bis einschließlich 66 Jahre und eine Gruppe über 66 Jahre aufgeteilt. Hierbei ergab sich über die Kaplan-Meier-Analyse und die Cox-Regression kein Einfluss das Gesamtüberleben und die rezidivfreie Zeit ($p = 0,075$ bzw. $p = 0,968$, siehe Tab. 11, 12, 13).

Tabelle 11: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach Altersgruppen

Altersgruppen	Gesamtüberleben [Wochen]				5-YSR [%]
	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	
Unter 66	292,6	8,5	275,9 - 309,3	0,075	87,2

Über 66	244,5	8,6	227,4 - 261,2	70,1
Gesamt	278,5	7,2	264,5 - 292,6	0,048%

% Alter bei Erstdiagnose direkt für die Berechnung verwendet, keine Aufteilung in Altersgruppen

Tabelle 12: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach Altersgruppen

	Rezidivfreie Zeit [Wochen]				5-RFS [%]
	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	
Unter 66	263,8	9,8	244,5 - 283,0	0,968	74,0
Über 66	247,5	9,0	229,7 - 265,2		76,8
Gesamt	262,3	7,0	248,5 - 276,0	0,192%	

% Alter bei Erstdiagnose direkt für die Berechnung verwendet, keine Aufteilung in Altersgruppen

Tabelle 13: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf das Alter

Cox-Regression	Gesamtüberleben			Rezidivfreies Überleben		
	p	HR	95 %-CI	p	HR	95 %-CI
Unter 66 vs. über 66	0,082	2,111	0,910 - 4,896	0,968	1,016	0,470 - 2,198
Alter bei Erstdiagnose	0,063	1,030	0,998 - 1,062	0,196	0,983	0,957 - 1,009

Um den Einfluss mehrerer unabhängiger Faktoren auf die Überlebens- und Rezidivwahrscheinlichkeit zu überprüfen, wurde eine multivariable Cox-Regression durchgeführt. Aufgrund des signifikanten Unterschieds beim Alter der Erstdiagnose ($p = 0,041$, siehe Tab. 9) sowie der Überlebenswahrscheinlichkeit zwischen den beiden GPER-1-Gruppen ($p = 0,029$, siehe Tab. 6) wurde dies durchgeführt, um den Parametereffekt des Alters zu korrigieren. Zu diesem Zweck wurde das Alter bei Erstdiagnose ohne weitere Modifikation verwendet. Bei dieser Cox-Regression wurde deutlich, dass sowohl GPER-1, als auch das Alter bei Erstdiagnose ihre prognostische Relevanz für das Gesamtüberleben verloren ($p = 0,059$ bzw. $p = 0,101$, siehe Tab. 14).

Tabelle 14: Ergebnisse der multivariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens bezogen auf die Parameter GPER-1 und Alter bei Erstdiagnose

Cox-Regression	Gesamtüberleben			Rezidivfreies Überleben		
	p	HR	95%-CI	p	HR	95%-CI
GPER-1 (≥ 4 vs. < 4)	0,059	0,415	0,167 - 1,035	0,498	0,756	0,337 - 1,696
Alter bei Erstdiagnose	0,101	1,026	0,995 - 1,059	0,164	0,981	0,954 - 1,008

3.3.1.2 Familienanamnese

In den Familien von 13 Männern (9,6 %) ist ein*e Familienangehörige*r ersten Grades an Brustkrebs erkrankt gewesen. Die Mehrzahl der Fälle ($n = 8$) ist in der Gruppe der GPER-1-positiven aufgetreten, während es bei den GPER1 negativen nur sechs waren. Diese Abweichung von den erwarteten Häufigkeiten blieb unter einem signifikanten Niveau ($p = 0,132$, siehe Anhang Tab. 36). Brustkrebs bei einem männlichen Angehörigen ist bei einem Patienten (1,9 %, GPER-1-positiv) in der Familienanamnese bekannt gewesen.

Über sowohl die Kaplan-Meier-Methode als auch die Cox-Regression konnte kein signifikanter Einfluss in Bezug auf das Gesamt- und das rezidivfreie Überleben gegenüber Männern ohne positive Familienanamnese errechnet werden ($p = 0,450$ bzw. $p = 0,948$, siehe Anhang Tab. 37, 38, 39).

3.3.1.3 Gewicht

Der BMI konnte bei 151 Patienten berechnet werden, bei zehn Patienten fehlten die Angaben zu Größe oder Gewicht. Der mediane BMI lag bei 27,8 (IQR: 25,2 - 31,6) und fiel damit in den Bereich einer Präadipositas (BMI: 25,0 bis 29,9 kg/m^2). Normalgewichtig (BMI: 18,5 bis 24,9 kg/m^2) waren 32 Patienten (19,9 %), während 46 Patienten als adipös galten (30,5 %, siehe Tab. 16 und Abb. 10, 11).

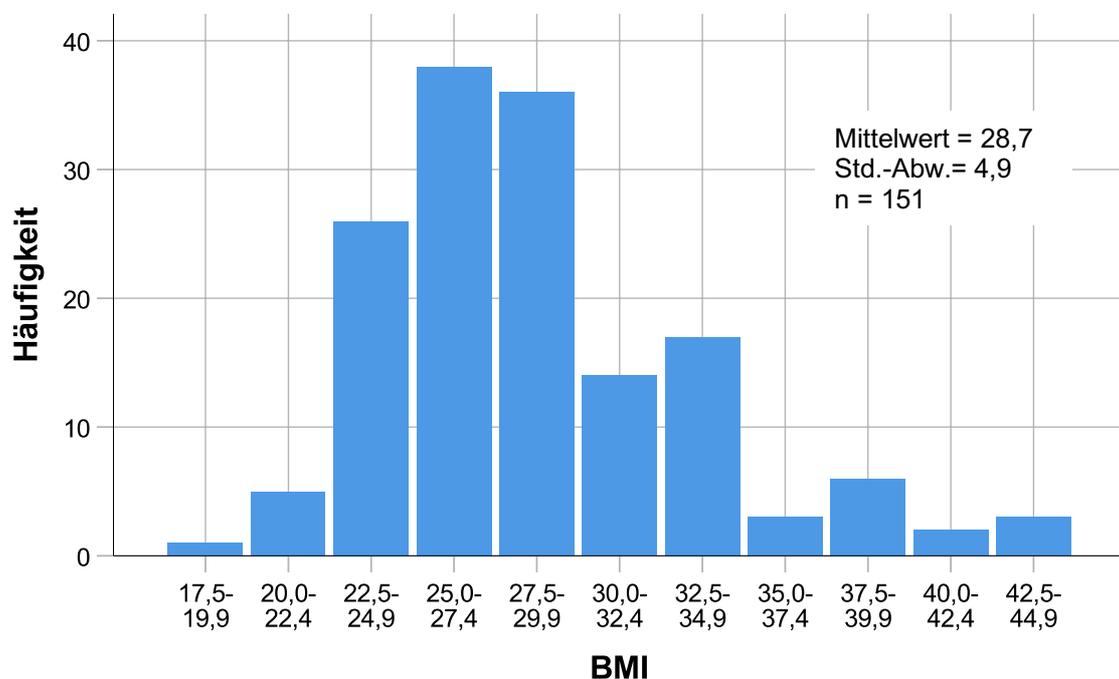


Abbildung 10: Histogramm Body-Mass-Index

Zwischen den GPER-1-Kohorten konnte mittels t-Test kein signifikanter Unterschied der Mittelwerte ($p = 0,681$, siehe Tab. 15) und keine signifikanten Unterschiede bezüglich der erwarteten Häufigkeitsverteilung im Chi-Quadrat-Test gezeigt werden ($p = 0,784$, siehe Tab. 16). Über den Rangkorrelationstest nach Spearman konnte kein Zusammenhang zwischen Gewicht (in kg) und GPER-1 gezeigt werden (Rho: $-0,038$, $p = 0,640$).

Tabelle 15: Body-Mass-Index (BMI) und Vergleich der Mittelwerte zwischen den GPER-1-Gruppen über den t-Test

BMI	Alle	GPER-1 positiv	GPER-1 negativ	p
Median	27,8	27,8	27,8	
IQR	25,2 - 31,6	25,2 - 31,9	25,3 - 31,5	
Mittelwert \pm SD	28,7 \pm 4,9	29,0 \pm 5,3	28,6 \pm 4,6	0,681
Bereich	18,7 - 44,4	20,3 - 44,4	18,7 - 43,2	
Fehlend	10	5	5	

Tabelle 16: Zusammenhang zwischen BMI und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests und des Spearman's Rho-Korrelationskoeffizienten

BMI	Alle		GPER-1 positiv		GPER-1 negativ		p	Spearman's	
	n	%	n	%	n	%		Rho	Sig
Normalgewicht	32	21,2	11	18,3	21	23,1			
Übergewicht	73	48,3	30	50,0	43	47,3			
Adipös	46	30,5	19	31,7	27	29,7			
Gesamt	151		60		91		0,784	0,054	0,513
Fehlend	10		5		5				

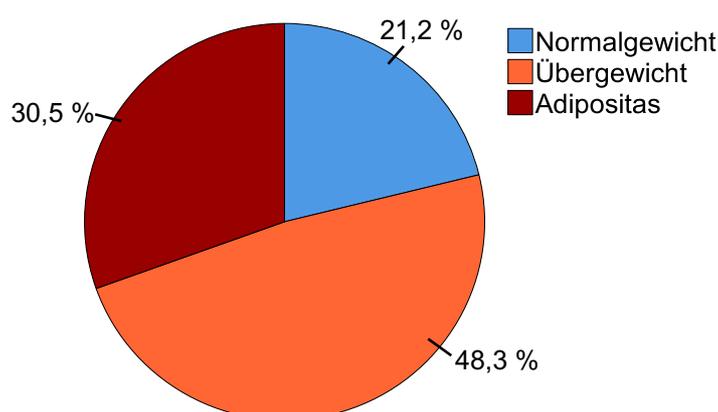


Abbildung 11: relative Häufigkeiten des BMI

Die Kaplan-Meier-Methode ergab, dass adipöse Patienten eine erniedrigte Überlebenswahrscheinlichkeit ($p = 0,045$) gegenüber nicht-adipösen Patienten hatten (siehe Tab. 17, Abb. 12).

Mithilfe der univariablen Cox-Regression konnte jedoch kein signifikanter Zusammenhang, aber ein statistischer Trend zwischen Adipositas und Überlebenszeit berechnet werden ($p = 0,051$, siehe Tab. 19).

Tabelle 17: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach BMI

BMI	Gesamtüberleben [Wochen]				5-YSR [%]
	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	
Normalgewicht	266,7	13,5	240,2 - 293,2	0,391 ^{&}	85,6
Übergewicht	285,4	9,8	266,2 - 304,6	0,275 ^{&}	82,7
Adipositas	254,1	11,4	231,7 - 276,5	0,045^{&}	64,3
Gesamt	280,2	6,9	266,7 - 293,7	0,132 [%]	

[&]verglichen mit allen anderen Gewichtsklassen; [%]Vergleich aller Gewichtsklassen untereinander

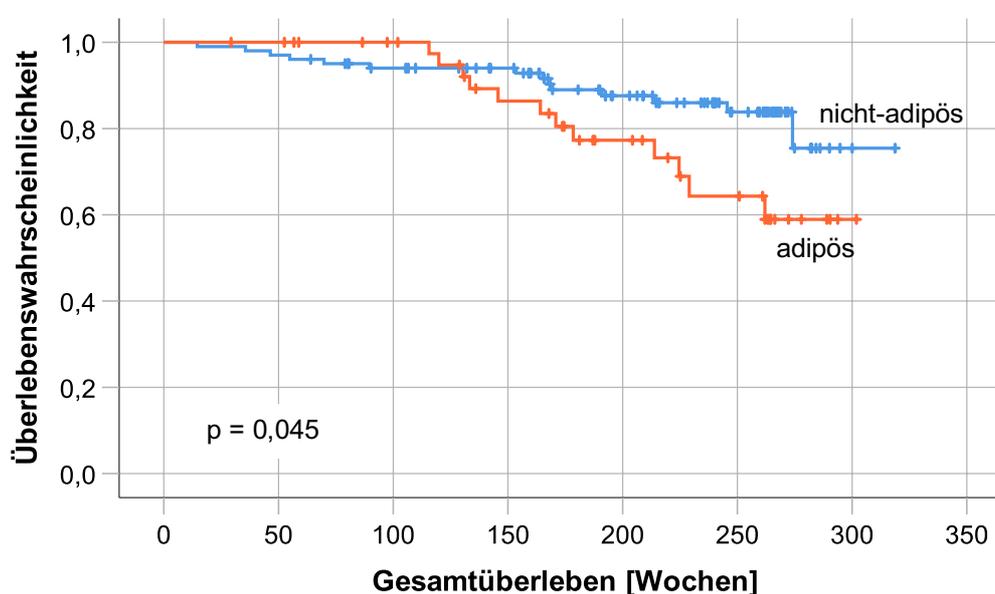


Abbildung 12: Kaplan-Meier Kurve der Überlebenswahrscheinlichkeit von adipösen und nicht-adipösen Personen

Tabelle 18: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach BMI

	Rezidivfreie Zeit [Wochen]				5-RFS [%]
	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	
Normalgewicht	279,5	10,5	258,8 - 300,1	0,072 ^{&}	92,8
Übergewicht	262,3	9,5	243,7 - 280,9	0,798 ^{&}	75,2
Adipositas	251,6	13,5	225,2 - 278,3	0,157 ^{&}	66,9
Gesamt	265,3	6,7	252,3 - 278,3	0,136 [%]	

[&]verglichen mit allen anderen Gewichtsklassen; [%]Vergleich aller Gewichtsklassen untereinander

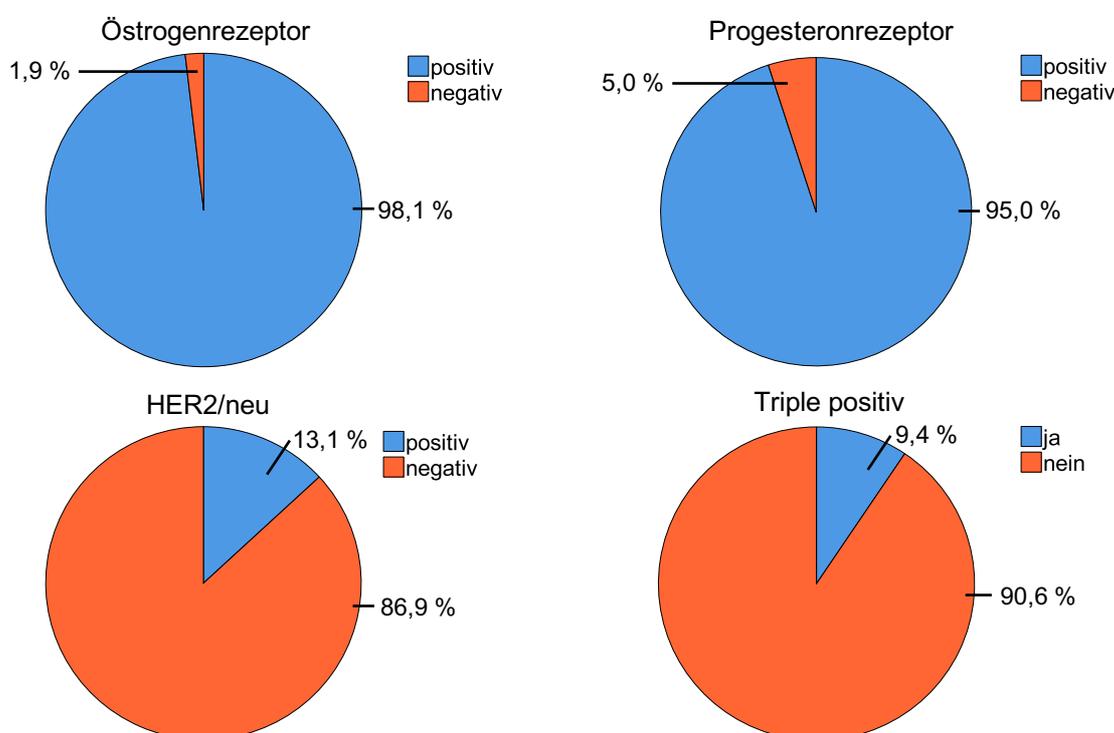
Tabelle 19: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf Adipositas

Cox-Regression	Gesamtüberleben			Rezidivfreies Überleben		
	<i>p</i>	<i>HR</i>	95 %- <i>CI</i>	<i>p</i>	<i>HR</i>	95 %- <i>CI</i>
Adipositas ja vs. nein	0,051	2,160	0,998 - 4,675	0,162	1,773	0,794 - 3,960

3.3.2 Pathologie

3.3.2.1 Hormonrezeptoren

Der ER wurde bei 157 Patienten (98,1 %) und der PR bei 153 Patienten (95,0 %) als positiv ausgewertet. Es konnten 21 Patienten positiv auf eine HER2/neu Ausprägung getestet werden (13,1 %, siehe Abb. 13). Im Exakten Test nach Fisher ergab sich kein Unterschied bei der erwarteten Häufigkeitsverteilung zwischen den beiden GPER-1-Gruppen hinsichtlich der drei Rezeptoren (ER: $p = 1,000$, PR: $p = 1,000$, HER2/neu: $p = 0,486$, siehe Anhang Tab. 40). Es konnte bei 11,7 % ($n = 15$) ein triple-positiver, dagegen bei keinem der Patienten ein triple-negativer Hormonstatus nachgewiesen werden. Es ergab sich über den Exakten Test nach Fisher ($p = 0,784$) kein Zusammenhang zwischen GPER-1-Zugehörigkeit und einem triple-positivem Status (Rho: 0,061, $p = 0,449$).

**Abbildung 13:** relative Häufigkeiten der Hormonrezeptoren

Über die Kaplan-Meier-Methode und die univariable Cox-Regression konnte kein signifikanter Einfluss des Hormonrezeptorstatus auf das Gesamtüberleben und die rezidivfreie Zeit gezeigt werden (siehe Anhang Tab. 41, 42, 43).

3.3.2.2 Histopathologische Typen

Der häufigste Typ war das invasive Karzinom des nicht-spezialen Typs (NST), welches bei 133 Patienten nachgewiesen werden konnte (82,6 %). Ein alleiniges DCIS lag bei zwei Patienten vor (1,2 %), während ein DCIS mit Teilen eines invasiven Karzinoms NST bei 11 Patienten diagnostiziert wurde (6,8 %). Invasiv papilläre und muzinöse Karzinome wurden bei jeweils drei Patienten diagnostiziert (1,9 %). Bei jeweils einem Patienten (0,6 %) wurden weitere, seltene Typen diagnostiziert (siehe Tab. 20 und Abb. 14). Der Chi-Quadrat-Test erbrachte keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen in Bezug auf die verschiedenen histopathologischen Typen ($p = 0,662$).

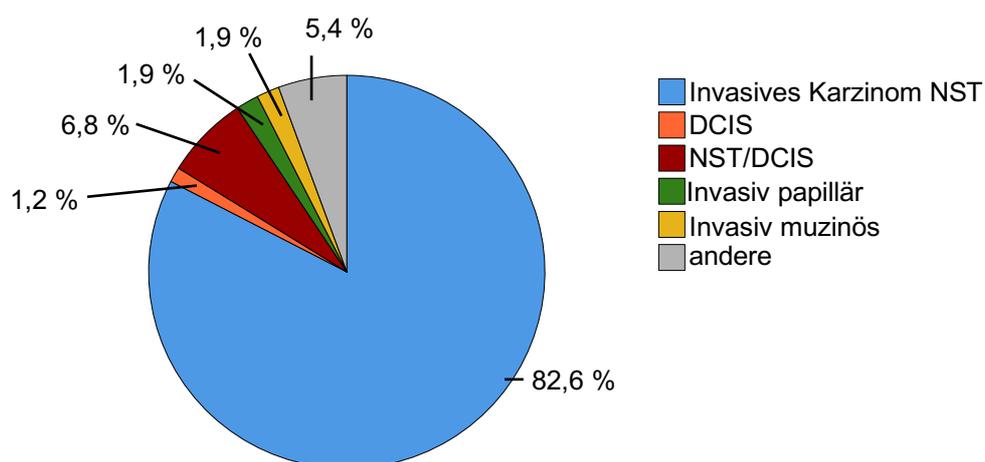


Abbildung 14: relative Häufigkeiten der histopathologischen Typen

Tabelle 20: Zusammenhang zwischen den histopathologischen Typen und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests

Histopathologie	Alle		GPER-1 positiv		GPER-1 negativ		<i>p</i>
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
Invasiv NST	133	82,6	53	81,5	80	83,3	
DCIS	2	1,2	1	1,5	1	1,0	
Invasiv/DCIS	11	6,8	4	6,2	7	7,3	
Invasiv papillär	3	1,9	1	1,5	2	2,1	
Muzinös	3	1,9	1	1,5	2	2,1	
Invasiv lobulär	1	0,6	1	1,5	0	0,0	
Kribriform	1	0,6	1	1,5	0	0,0	

Adenokarzinom	1	0,6	0	0	1	1,0
NST mit lobulärer Komponente	1	0,6	1	1,5	0	0,0
Intrazystisch papillär	1	0,6	0	0	1	1,0
Invasiv, partiell mikropapillär	1	0,6	0	0	1	1,0
Mäßig differenziertes invasives Karzinom	1	0,6	0	0	1	1,0
NST teils papillär + DCIS	1	0,6	1	1,5	0	0,0
Teils NST, teils muzinös	1	0,6	1	1,5	0	0,0
Gesamt	161		65		96	0,662

Mittels der Kaplan-Meier-Analyse konnten keine signifikanten Unterschiede in der Überlebens- und Rezidivwahrscheinlichkeit zwischen den Gruppen festgestellt werden (siehe Anhang Tab. 44, 45). Bei dem Vergleich NST-Tumor gegenüber anderen Tumoren konnte ein statistischer Trend zu einer schlechteren Überlebenswahrscheinlichkeit gezeigt werden, eine statistische Signifikanz konnte aber nicht nachgewiesen werden ($p = 0,079$). Über die Cox-Regression konnte kein signifikanter Einfluss auf das Gesamtüberleben und die rezidivfreie Zeit berechnet werden ($p = 0,114$, bzw. $= 0,768$, siehe Tab. 46).

3.3.2.3 TNM

3.3.2.3.1 Tumorstatus (T)

In der Datenbank wurde der T-Status bei 148 Patienten dokumentiert, die Angaben zu 13 Patienten fehlten. Eine statistische Analyse mittels Chi-Quadrat-Test ergab keinen signifikanten Unterschied der Häufigkeitsverteilung zwischen den beiden GPER-1-Gruppen ($p = 0,162$, siehe Tab. 21, Abb. 15). Im Vergleich mittels Rangkoeffizient nach Spearman ergab sich kein signifikanter Einfluss zwischen GPER-1 und T-Stadium (Rho: $-0,020$, $p = 0,813$).

Über das T-Stadium wurden die Patienten in zwei Gruppen unterteilt: die Erste umfasste Patienten mit einer Tumorgroße $< 2,0$ cm (entspricht: pTis, pT1) und die Zweite eine Tumorgroße $\geq 2,0$ cm (entspricht: pT2, pT3, pT4). Über den Exakten Test nach Fisher ($p = 0,093$, siehe Tab. 21) ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

Tabelle 21: Zusammenhang zwischen T-Klassifikation und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests bzw. Exakten Tests nach Fisher und des Spearman's Rho-Korrelationskoeffizienten

pT	Alle		GPER-1 positiv		GPER-1 negativ		p	Spearman's	
	n	%	n	%	n	%		Rho	Sig.
pTis	3	2,0	0	0	3	3,4			
pT1	71	48,0	35	59,3	36	40,4			
pT2	49	33,1	15	25,4	34	38,2			
pT3	6	4,1	2	3,4	4	4,5			

pT4	19	12,8	7	11,9	12	13,5			
Gesamt	148		59		89		0,162	-0,020	0,813
Fehlend	13		6		7				
Tumorgröße < 2 cm	74	50,0	35	59,3	39	43,8	0,093		
Tumorgröße ≥ 2 cm	74	50,0	24	40,7	50	56,2			

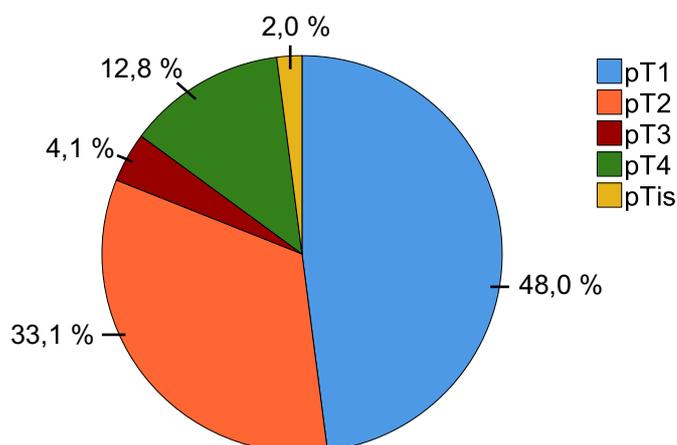


Abbildung 15: relative Häufigkeiten des pT-Status

Über die Kaplan-Meier-Analyse konnte ein signifikanter Unterschied der Überlebenswahrscheinlichkeiten der pT-Stadien gezeigt werden ($p = 0,043$, siehe Tab. 22, Abb. 16). Im Vergleich des pT1-Stadiums ($p = 0,014$) bzw. des pT4-Stadiums ($p = 0,046$) zu den anderen Gruppen ergaben sich signifikante Unterschiede im Hinblick auf die Überlebenswahrscheinlichkeiten. Patienten im Stadium pT1 überlebten im Mittel 281,6 Wochen, während es im Stadium pT4 238,0 Wochen waren. Mittels Cox-Regression ergab sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem pT1-Status und dem Gesamtüberleben ($p = 0,019$, siehe Tab. 24). Die Stadien mit einer Tumorgröße < 2,0 cm wiesen in der Kaplan-Meier-Analyse eine signifikant höhere Überlebenswahrscheinlichkeit auf ($p = 0,010$, siehe Tab. 22). Über die Cox-Regression konnte ein signifikanter Einfluss der Tumorgröße auf das Gesamtüberleben berechnet werden ($p = 0,014$, HR = 3,001, siehe Tab. 24).

Tabelle 22: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach T-Klassifikation

pT	Gesamtüberleben [Wochen]				5-YSR [%]
	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	
pTis	(*)	(*)	(*)	0,570 ^{&}	100,0
pT1	281,6	4,6	272,5 - 290,7	0,014^{&}	85,3
pT2	257,1	15,3	227,1 - 287,0	0,072 ^{&}	74,0
pT3	(*)	(*)	(*)	0,333 ^{&}	100,0
pT4	238,0	20,5	197,8 - 278,2	0,046^{&}	54,5

Gesamt	280,6	6,9	267,0 - 294,3	0,043%	
Tumorgröße < 2 cm	281,8	4,6	272,8 - 290,7	0,010	85,5
Tumorgröße ≥ 2 cm	260,6	11,8	237,4 - 283,6		71,3

&verglichen mit allen anderen pT-Stadien; %Vergleich aller pT-Stadien untereinander; (*) ist aufgrund einer 100 %-igen Überlebensrate nicht definiert

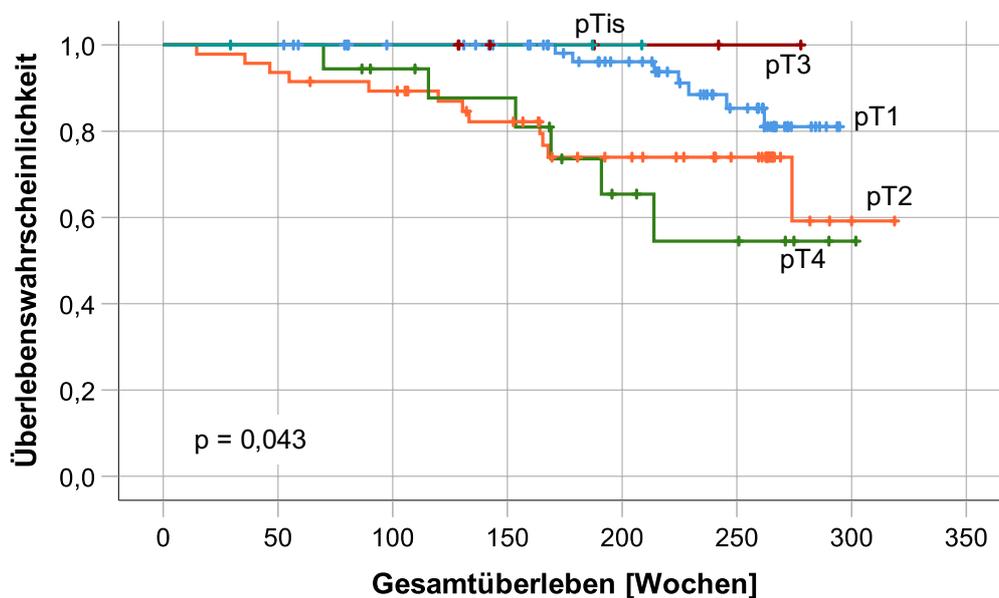


Abbildung 16: Kaplan-Meier Kurve der Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit vom pT-Status

Tabelle 23: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach T-Klassifikation

pT	Rezidivfreie Zeit [Wochen]				5-RFS [%]
	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	
pTis	(*)	(*)	(*)	0,561&	100,0
pT1	268,3	7,8	253,0 - 283,6	0,346&	81,4
pT2	260,7	12,6	236,1 - 285,3	0,670&	76,5
pT3	248,2	21,0	207,1 - 289,3	0,953&	50,0
pT4	246,9	23,5	200,8 - 293,1	0,282&	67,1
Gesamt	267,5	6,6	254,7 - 280,4	0,752%	
Tumorgröße < 2 cm	269,0	7,6	254,1 - 283,9	0,279	81,8
Tumorgröße ≥ 2 cm	259,4	10,5	238,9 - 280,0		73,2

&verglichen mit allen anderen pT-Stadien; %Vergleich aller pT-Stadien untereinander; (*) ist aufgrund einer 100 %-igen Überlebensrate nicht definiert

Tabelle 24: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf den T-Status

Cox-Regression Faktor	Gesamtüberleben			Rezidivfreies Überleben		
	<i>p</i>	<i>HR</i>	95 %-CI	<i>p</i>	<i>HR</i>	95 %-CI
pT1	0,019	0,351	0,146 - 0,841	0,349	0,674	0,295 - 1,540
pT2	0,078	2,025	0,923 - 4,442	0,670	1,205	0,511 - 2,843
pT3	0,552	0,047	0,0 - 551,274	0,953	1,062	0,143 - 7,900
pT4	0,053	2,483	0,987 - 6,247	0,289	1,795	0,609 - 5,286
Gesamt	0,045	1,382	1,008 - 1,896	0,367	1,178	0,825 - 1,683
Tumorgröße (<2,0 vs. ≥2,0 cm)	0,014	3,001	1,251 - 7,200	0,283	1,572	0,688 - 3,592

3.3.2.3.2 Lymphknotenstatus (N)

Es waren die Ergebnisse von 141 Patienten in der Datenbank enthalten, 20 Angaben fehlten. Über den Chi-Quadrat-Test ergab sich ein signifikanter Unterschied der erwarteten Häufigkeitsverteilung zwischen den GPER-1-Gruppen ($p = 0,041$, siehe Tab. 25 und Abb. 17). Bei GPER-1-negativen Patienten lag signifikant häufiger ein pN0-Status vor, während bei GPER-1-positiven Patienten ein pN1 oder ein pN2-Status signifikant häufiger vorlagen. Im Vergleich der Gruppen mittels Spearman's-Rho-Tests konnte ein statistischer Trend gezeigt werden, ohne eine Signifikanz aufzuweisen ($Rho = 0,147$, $p = 0,082$).

Die Kohorte wurde unterteilt in eine Gruppe mit keinem bzw. niedriggradigem Lymphknotenbefall (pN0 und pN1) und eine Gruppe mit höhergradigem Befall (pN2 und pN3). Auch hier konnte über den Exakten Test nach Fisher kein signifikanter Unterschied berechnet werden ($p = 0,823$).

Tabelle 25: Zusammenhang zwischen N-Klassifikation und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests bzw. Exakten Tests nach Fisher und des Spearman's Rho-Korrelationskoeffizienten

pN	Alle		GPER-1 positiv		GPER-1 negativ		<i>p</i>	Spearman's	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%		<i>Rho</i>	<i>Sig.</i>
pN0	74	52,5	26	45,6	48	57,1			
pN1	42	29,8	20	35,1	22	26,2			
pN2	19	13,5	11	19,3	8	9,5			
pN3	6	4,3	0	0	6	7,1			
Gesamt	141		57		84		0,041	0,147	0,082
Fehlend	20		8		12				
pN0, pN1	116	82,3	46	80,7	70	83,3	0,823		
pN2, pN3	25	17,7	11	19,3	14	16,7			

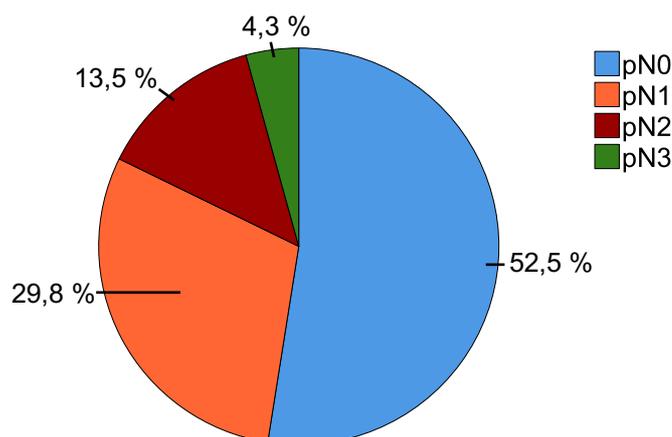


Abbildung 17: relative Häufigkeiten des pN-Status

Über die Kaplan-Meier-Analyse konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den pN-Stadien bezüglich des Gesamtüberlebens und der rezidivfreien Zeit gezeigt werden ($p < 0,001$, siehe Tab. 26, 27 und Abb. 18). Ein signifikanter Unterschied bezüglich der Überlebenswahrscheinlichkeit konnte in den Stadien pN2, pN3 ($p = 0,041$ bzw. $<0,001$) bzw. bezüglich der Rezidivwahrscheinlichkeit im Stadium pN2 gezeigt werden ($p < 0,001$). Über die Cox-Regression konnte ein signifikanter Einfluss des Lymphknotenstatus gezeigt werden (Gesamtüberleben: N2: $p = 0,050$, N3: $p = 0,001$; rezidivfreies Überleben N3: $p < 0,001$, siehe Tab. 28).

Die Kaplan-Meier-Methode ergab einen signifikanten Unterschied der Wahrscheinlichkeit des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens zwischen den Gruppen mit niedrigem gegenüber hohem Lymphknotenbefall ($p < 0,001$ bzw. $p = 0,001$, siehe Tab. 26, 27). In der Cox-Regression zeigte sich eine signifikante Korrelation von höhergradigem Lymphknotenbefall mit dem Gesamt- und rezidivfreien Überleben ($p = 0,001$ bzw. $p = 0,002$, siehe Tab. 28).

Tabelle 26: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach N-Klassifikation

pN	Gesamtüberleben [Wochen]				5-YSR [%]
	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	
pN0	279,5	7,3	265,2 - 293,7	0,141 ^{&}	85,3
pN1	293,4	10,8	272,1 - 314,6	0,354 ^{&}	83,8
pN2	230,0	21,4	188,0 - 272,1	0,041 ^{&}	57,7
pN3	140,8	30,7	80,7 - 201,0	<0,001^{&}	26,7
Gesamt	283,7	6,9	270,2 - 297,2	<0,001[%]	
pN0, pN1	293,2	6,5	280,5 - 306,0	<0,001	84,7
pN2, pN3	214,0	20,3	174,1 - 253,8		48,7

[&]verglichen mit allen anderen pN-Stadien; [%]Vergleich aller pN-Stadien untereinander

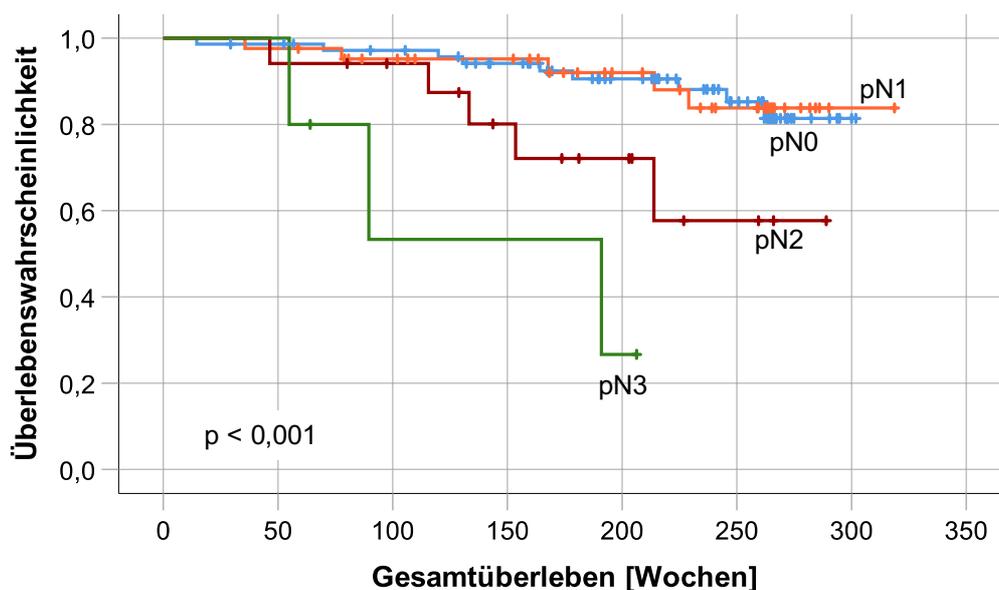


Abbildung 18: Kaplan-Meier-Kurve der Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit vom pN-Status

Tabelle 27: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach N-Klassifikation

pN	Rezidivfreie Zeit [Wochen]				5-RFS [%]
	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	
pN0	278,5	7,4	264,1 - 292,9	0,100 ^{&}	82,5
pN1	261,3	11,0	239,8 - 282,8	0,678 ^{&}	81,2
pN2	220,1	17,8	185,2 - 254,9	0,183 ^{&}	52,7
pN3	68,0	9,1	50,2 - 85,9	<0,001 ^{&}	30,0
Gesamt	267,9	6,6	254,9 - 280,9	<0,001 [%]	
pN0, pN1	275,9	6,3	263,5 - 288,2	0,001	82,1
pN2, pN3	196,5	19,8	157,8 - 235,3		45,2

[&]verglichen mit allen anderen pN-Stadien; [%]Vergleich aller pN-Stadien untereinander

Tabelle 28: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf den N-Status

Cox-Regression Faktor	Gesamtüberleben			Rezidivfreies Überleben		
	p	HR	95 %-CI	p	HR	95 %-CI
pN0	0,148	0,534	0,228 - 1,250	0,107	0,496	0,221 - 1,162
pN1	0,359	0,627	0,231 - 1,700	0,678	0,820	0,321 - 2,096
pN2	0,050	2,739	1,002 - 7,491	0,192	2,073	0,693 - 6,206
pN3	0,001	9,042	2,555 - 31,996	<0,001	41,132	8,722 - 193,965
Gesamt	<0,001	2,092	1,326 - 3,300	<0,001	2,376	1,429 - 3,949
pN0, pN1 vs. pN2, pN3	0,001	4,511	1,860 - 10,942	0,002	4,188	1,671 - 10,492

In der multivariablen Cox-Regression, in der die in der univariablen Analyse signifikant erschienenen Variablen GPER-1-Status, Tumorgroße, Lymphknotenstatus und Adipositas berücksichtigt wurden, blieb lediglich der Lymphknotenstatus ein signifikanter Faktor für das Gesamtüberleben ($p = 0,004$). Bezogen auf das rezidivfreie Überleben konnten sowohl das Alter bei Erstdiagnose ($p = 0,037$) und der Lymphknotenstatus ($p = 0,002$, siehe Tab. 29) als prognostisch signifikante Faktoren identifiziert werden.

Tabelle 29: Ergebnisse der multivariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens bezogen auf die Parameter GPER-1, Alter bei Erstdiagnose, Tumorgroße, Lymphknotenstatus und Adipositas

Cox-Regression	Gesamtüberleben			Rezidivfreies Überleben		
	<i>p</i>	<i>HR</i>	<i>95%-CI</i>	<i>p</i>	<i>HR</i>	<i>95%-CI</i>
GPER-1 (≥ 4 vs. < 4)	0,175	0,498	0,182 - 1,365	0,563	0,759	0,299 - 1,929
Alter bei Erstdiagnose ^{&}	0,257	1,022	0,984 - 1,061	0,037	0,967	0,937 - 0,998
Tumorgroße ($< 2,0$ vs. $\geq 2,0$ cm)	0,155	2,076	0,758 - 5,681	0,630	1,260	0,491 - 3,234
Lymphknotenstatus (N0, N1 vs. N2, N3)	0,004	4,262	1,599 - 11,360	0,002	4,955	1,785 - 13,756
Adipositas (ja vs. nein)	0,056	2,371	0,978 - 5,746	0,537	1,349	0,522 - 3,485

[&]Alter bei Erstdiagnose direkt für die Berechnung verwendet, keine Aufteilung in Altersgruppen

3.3.2.3.3 Metastasen (M)

Fernmetastasen (M1) lagen bei sieben Patienten vor (4,6 %). Zwischen beiden GPER-Gruppen ergab sich über den Exakten Test nach Fisher kein signifikanter Unterschied bezüglich des Vorliegens von Fernmetastasen ($p = 1,000$, siehe Anhang Tab. 47).

Es konnte ein signifikanter Einfluss des Vorliegens von Fernmetastasen auf das rezidivfreie Überleben der Patienten gezeigt werden ($p < 0,001$, siehe Tab. 49). In der Cox-Regression zeigte sich der Status M1 als prognostisch relevanter Faktor auf das rezidivfreie Überleben ($p < 0,001$, siehe Tab. 50).

3.3.2.3.4 Grading (G)

Hinsichtlich des Gradings konnte kein Unterschied der Häufigkeitsverteilungen zwischen beiden Gruppen festgestellt werden ($p = 0,558$, siehe Anhang Tab. 51).

Ein Einfluss des Gradings auf die Überlebens- und die Rezidivwahrscheinlichkeit konnte nicht gezeigt werden ($p = 0,812$ bzw. $0,145$, siehe Tab. 52, 53). Mittels der Cox-Regression konnte das Grading nicht als prognostisch relevanter Faktor bestimmt werden (siehe Tab. 54).

3.3.3 Therapie

3.3.3.1 Operation

Die häufigste durchgeführte Operation war die Ablatio mammae ($n = 136$, 91,9 %, siehe Abb. 19). Bei einem Patienten wurde eine beidseitige Ablatio mammae vermerkt (0,7 %). Bei insgesamt sieben Patienten wurde eine brusterhaltende Therapie (BET), eine Tumorektomie oder eine Segmentresektion durchgeführt (4,7 %). Bei drei Patienten wurde eine subkutane Mastektomie, eine eingeschränkte radikale Mastektomie bzw. eine Tumorexstirpation vermerkt (zusammengefasst in „andere“ 2,0 %). Über den Chi-Quadrat-Test konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Häufigkeiten der GPER-Gruppen und der durchgeführten Operation festgestellt werden ($p = 0,355$, siehe Anhang Tab. 55). Mithilfe des Chi-Quadrat-Tests bzw. Exakten Tests nach Fisher wurden die Zusammenhänge zwischen den Operationen und klinisch-pathologischen Parametern (Alter bei Erstdiagnose, BMI, pT-, pN-, M-, G-, ER-, PR- und HER2/neu-Status) untersucht. Die durchgeführte statistische Analyse ergab jedoch keine signifikanten Korrelationen zwischen den Parametern (Ergebnisse nicht dargestellt).

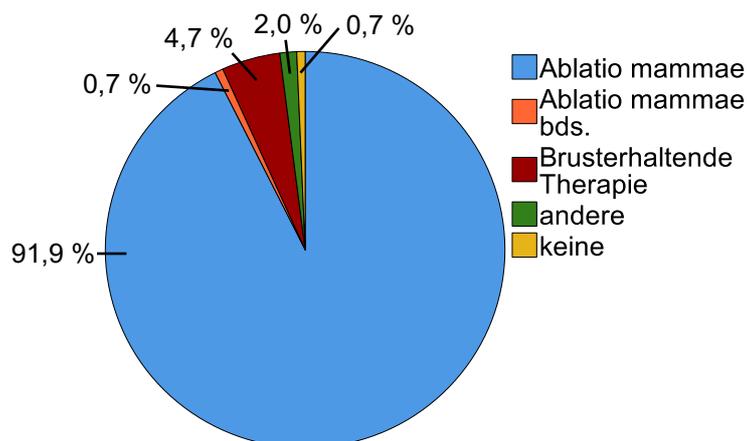


Abbildung 19: relative Häufigkeiten der operativen Therapien

Es konnte mit der Kaplan-Meier-Methode kein Einfluss der Operationsmethode auf die Überlebenswahrscheinlichkeit der Patienten festgestellt werden ($p = 0,158$, siehe Anhang Tab. 56). Das rezidivfreie Überleben ist bei Patienten, bei denen eine Ablatio mammae durchgeführt wurde, signifikant höher als bei allen anderen Operationen gewesen ($p = 0,028$, siehe Tab. 57). In der Cox-Regression konnte dies als prognostisch relevanter Faktor bestätigt werden ($p = 0,036$, siehe Tab. 58).

3.3.3.2 Operative Therapie der Axilla

Am häufigsten wurde eine Sentinel-Node-Biopsie (SNB) durchgeführt ($n = 70$, 54,3 %), eine Axilladissektion erhielten 41 Patienten (31,8 %, siehe Tab. 30 und Abb. 20). Es konnte kein signifikanter Unterschied der erwarteten Häufigkeitsverteilungen zwischen den GPER-1-Gruppen festgestellt werden ($p = 0,390$). Die Korrelation der operativen Therapie der Axilla und verschiedenen klinisch-pathologischen Parametern (Alter bei Erstdiagnose, BMI, pT, pN, M, G, ER, PR, HER2/neu) wurde mittels Chi-Quadrat-Test bzw. Exaktem Test nach Fisher untersucht. Es wurden signifikant mehr SNBs bei einer Tumorgroße unter 2 cm durchgeführt ($p = 0,003$). Die meisten SNBs wurden im Stadium pN0 durchgeführt ($n = 56$), während es keine in den Stadien pN2 und pN3 gewesen sind ($p < 0,001$). Zwischen den anderen Variablen konnte kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden (Ergebnisse nicht dargestellt).

Tabelle 30: Zusammenhang zwischen operativer Therapie der Axilla und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests

Operative Therapie der Axilla	Alle		GPER-1 positiv		GPER-1 negativ		<i>p</i>
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
Axilladissektion	41	31,8	14	28,6	27	33,8	
SNB	70	54,3	26	53,1	44	55,0	
Beides	17	13,2	9	18,4	8	10,0	
keine	1	0,8	0	0	1	1,3	
Gesamt	129		49		80		0,390
Fehlend	32		16		16		

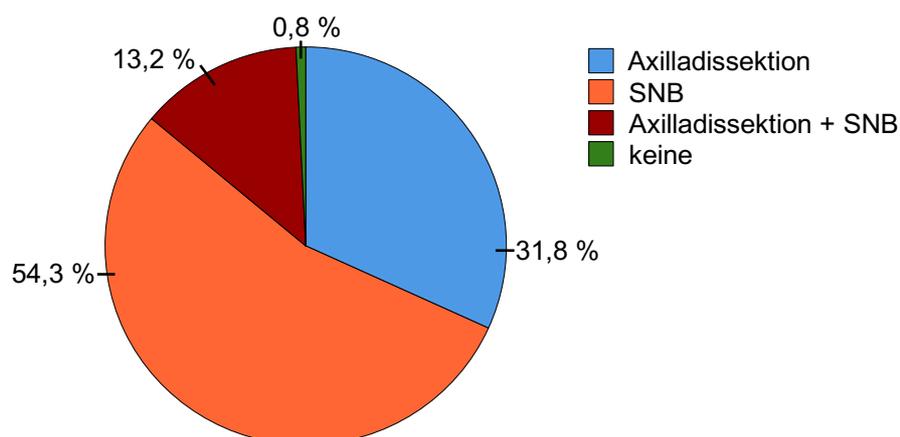


Abbildung 20: relative Häufigkeiten der operativen Therapien der Axilla

Die Kaplan-Meier-Analyse wurde verwendet, um das Gesamtüberleben und die rezidivfreie Zeit der Patienten zu untersuchen, die eine Axilladissektion bzw. eine SNB erhalten haben.

Die Ergebnisse zeigten einen signifikanten Einfluss beider Parameter auf das Gesamtüberleben ($p = 0,001$ bzw. $p = 0,003$, siehe Tab. 31 und Abb. 21) und die rezidivfreie Zeit ($p = 0,004$ bzw. $0,028$, siehe Tab. 32). Patienten, bei denen eine SNB durchgeführt wurde, lebten im Mittel etwa 60 Wochen länger und hatten eine um 40 Wochen längere rezidivfreie Zeit, als Patienten, die eine Axilladisektion erhalten hatten.

Mithilfe der Cox-Regression konnte ebenfalls ein signifikanter Einfluss der Parameter SNB bzw. Axilladisektion auf das Gesamtüberleben und die rezidivfreie Zeit festgestellt werden (siehe Tab. 33). Da die Entscheidung zu einer SNB oder einer Axilladisektion maßgeblich vom Lymphknotenstatus abhängt (68), wurde in einer multivariablen Cox-Regression dieser berücksichtigt. Dabei konnte kein unabhängiger signifikanter Einfluss von Axilladisektion oder SNB auf OS und RFS beobachtet werden (siehe Tab. 34 und 35).

Tabelle 31: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach operativer Therapie der Axilla

Operative Therapie der Axilla	Gesamtüberleben [Wochen]				5-YSR [%]
	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	
Axilladisektion	248,5	13,1	222,9 - 274,1	0,001^{&}	64,6
SNB	305,3	6,6	292,3 - 318,3	0,003^{&}	91,8
Beides	275,9	15,9	244,8 - 307,0	0,875 ^{&}	80,0
Gesamt	288,0	6,7	275,0 - 301,2	0,003[%]	

[&]verglichen mit allen anderen operativen Therapien der Axilla; [%]Vergleich aller operativen Therapien untereinander

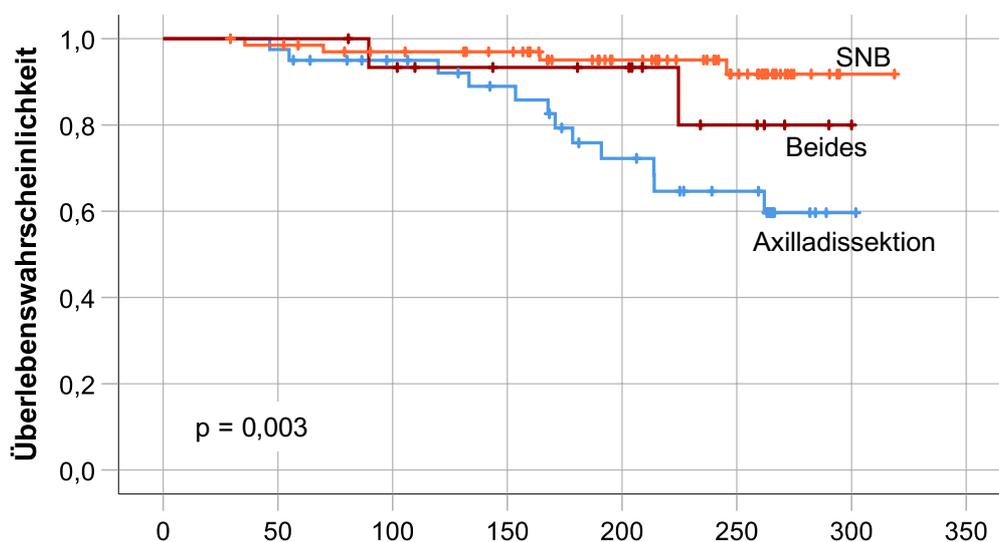


Abbildung 21: Kaplan-Meier Kurve der Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit von der operativen Therapie der Axilla

Tabelle 32: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach operativer Therapie der Axilla

Operative Therapie der Axilla	Rezidivfreie Zeit [Wochen]				5-RFS [%]
	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	
Axilladissektion	235,0	15,6	204,4 - 265,7	0,004 ^{&}	58,4
SNB	273,2	7,4	259,0 - 287,4	0,028 ^{&}	83,2
Beides	286,4	13,0	260,9 - 311,9	0,233 ^{&}	90,9
Gesamt	266,9	6,9	253,3 - 280,5	0,008 [%]	

[&]verglichen mit allen anderen operativen Therapien der Axilla; [%]Vergleich aller operativen Therapien untereinander

Tabelle 33: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf die operative Therapie der Axilla

Cox-Regression Faktor	Gesamtüberleben			Rezidivfreies Überleben		
	p	HR	95 %-CI	p	HR	95 %-CI
Axilladissektion	0,002	4,577	1,716 - 12,205	0,007	3,205	1,382 - 7,433
SNB	0,007	0,216	0,071 - 0,657	0,034	0,391	0,164 - 0,933

Tabelle 34: Ergebnisse der multivariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens bezogen auf die Parameter Axilladissektion, Tumorgroße und Lymphknotenstatus

Cox-Regression	Gesamtüberleben			Rezidivfreies Überleben		
	p	HR	95%-CI	p	HR	95%-CI
Axilladissektion	0,097	2,640	0,838 - 8,315	0,156	2,103	0,754 - 5,865
Lymphknotenstatus (N0, N1 vs. N2, N3)	0,050	3,098	1,001 - 9,582	0,036	3,182	1,078 - 9,398

[&]Alter bei Erstdiagnose direkt für die Berechnung verwendet, keine Aufteilung in Altersgruppen

Tabelle 35: Ergebnisse der multivariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens bezogen auf die Parameter SNB, Tumorgroße und Lymphknotenstatus

Cox-Regression	Gesamtüberleben			Rezidivfreies Überleben		
	p	HR	95%-CI	p	HR	95%-CI
SNB	0,123	0,369	0,104 - 1,309	0,733	0,824	0,269 - 2,518
Lymphknotenstatus (N0, N1 vs. N2, N3)	0,043	3,156	1,039 - 9,583	0,014	4,311	1,348 - 13,783

[&]Alter bei Erstdiagnose direkt für die Berechnung verwendet, keine Aufteilung in Altersgruppen

3.3.3.3 Strahlentherapie

Eine Strahlentherapie wurde unter den GPER-1-positiven Patienten bei 59,6 % durchgeführt (n = 34), während es in der Gruppe der GPER-1-negativen nur 44,8 % (n = 39) waren. Basierend auf der erwarteten Häufigkeitsverteilung zwischen den GPER-Gruppen wurde ein statistischer Trend beobachtet, der darauf hindeutet, dass GPER-1-positive Patienten häufiger einer

Strahlentherapie unterzogen wurden als GPER-1-negative Patienten ($p = 0,091$, siehe Anhang Tab. 59). Mithilfe des Chi-Quadrat-Tests bzw. Exakten Tests nach Fisher wurde die Korrelation zwischen Strahlentherapie und verschiedenen klinisch-pathologischen Parametern (Alter bei Erstdiagnose, BMI, pT, pN, M, G, ER, PR, HER2/neu) untersucht. Es zeigte sich, dass Patienten mit Tumoren größer als 2 cm und Patienten mit Lymphknotenbefall in den Stadien pN2 und pN3 signifikant häufiger eine Strahlentherapie erhielten ($p = 0,003$ bzw. $p < 0,001$). Für die anderen Variablen konnte kein signifikanter Zusammenhang nachgewiesen werden (Ergebnisse nicht dargestellt).

Die Kaplan-Meier Methode zeigte keinen signifikanten Einfluss einer Strahlentherapie auf das Gesamt- und das rezidivfreie Überleben ($p = 0,694$ bzw. $p = 0,549$, siehe Tab. 60, 61). Über die Cox-Regression konnte ebenfalls kein Einfluss des Parameters festgestellt werden (siehe Tab. 62).

3.3.3.4 Endokrine Therapie

Insgesamt erhielten 128 der 161 Patienten eine endokrine Therapie (78,9 %). Bei 18 Patienten wurde angegeben, dass sie keine endokrine Therapie erhalten haben (10,6 %), die Angaben von 16 Patienten fehlten. Tamoxifen wurde am häufigsten eingesetzt ($n = 124$, 97,7 % der Patienten mit endokriner Therapie, siehe Anhang Tab. 63). Bei zwei Patienten wurde ein Aromataseinhibitor (3,8 %) bzw. bei einem Patienten Fulvestrant eingesetzt (1,5 %). Im Chi-Quadrat-Test konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den GPER-1-Kohorten und den unterschiedlichen endokrinen Therapieoptionen gezeigt werden ($p = 0,117$).

Die Ergebnisse der Kaplan-Meier-Analyse und der Cox-Regression zeigten keine signifikant verbesserten Ergebnisse bezüglich Gesamt- bzw. rezidivfreiem Überleben für eine der Therapiearten gegenüber Patienten ohne endokrine Therapie (Kaplan-Meier: $p = 0,771$ bzw. $p = 0,288$, Cox-Regression: $p = 0,772$ bzw. $p = 0,310$, siehe Anhang Tab. 64, 65, 66).

4 Diskussion

Gegenstand dieser Dissertation ist die erstmalige Untersuchung der Expression des alternativen Östrogenrezeptors GPER-1 beim Mammakarzinom des Mannes (MBC) im Zusammenhang mit klinisch-pathologischen Parametern. Besonderes Augenmerk lag auch auf der Analyse des Zusammenhangs mit dem Gesamt- und des rezidivfreien Überlebens der Patienten.

4.1 GPER-1-Ergebnisse

In dieser Studie wurde der GPER-1-Status der Patienten anhand des errechneten IRS bestimmt, wobei ein Schwellenwert von ≥ 4 angewendet wurde. Die Festlegung dieses Schwellenwerts erfolgte über den minimalen p-Wert-Ansatz der Ergebnisse des Log-Rank-Tests in der Kaplan-Meier-Analyse. Da dieser Ansatz jedoch ein erhöhtes Risiko für einen Typ-I-Fehler mit sich bringt, wurde im Anschluss ein Permutationstest durchgeführt, um das Signifikanzniveau der Kaplan-Meier-Analyse angemessen zu kontrollieren (142).

Eine Teilung bei einem Schwellenwert von ≥ 3 hätte den Vorteil gehabt, das Kollektiv am Median aufteilen zu können. Es wären 50,3 % GPER-1-positiv ($n = 81$) und 49,7 % GPER-1-negativ ($n = 80$) gewesen. Außerdem wurde in zwei Studien von Ignatov et al. zum Brustkrebs der Frau der IRS auf die gleiche Weise ermittelt und der Schwellenwert auf ≥ 3 festgelegt (128, 143).

Bei einem Schwellenwert von ≥ 3 konnte über den Chi-Quadrat-Test bzw. Exakten Test nach Fisher kein signifikanter Zusammenhang zwischen GPER-1-Status und allen geprüften klinisch-pathologischen Parametern festgestellt werden (Ergebnisse nicht dargestellt). Es wurde lediglich ein statistischer Trend zwischen GPER-1-Status und pN-Status ($p = 0,082$), Strahlentherapie ($p = 0,066$) und Todesfällen ($p = 0,056$) beobachtet. Mittels der Kaplan-Meier-Analyse ergab der GPER-1-Status ebenfalls einen statistischen Trend zu einer verbesserten Überlebenswahrscheinlichkeit ($p = 0,065$), jedoch wurde kein Zusammenhang zum rezidivfreien Überleben festgestellt.

Mit dem Schwellenwert von ≥ 4 konnte über den Exakten Test nach Fisher gezeigt werden, dass es einen signifikanten Einfluss von GPER-1 auf die Anzahl von Todesereignissen gab. Es waren signifikant mehr Todesfälle unter den GPER-1-negativen Patienten zu finden ($p = 0,033$). Mittels der Kaplan-Meier-Analyse konnte, nach Anpassung durch den Permutationstest, dagegen keine signifikant erhöhte Überlebenswahrscheinlichkeit der GPER-1-positiven Patienten gezeigt werden ($p = 0,109$). Während in der univariablen Cox-Regression ein signifikantes Ergebnis ($p = 0,036$) bestand, konnte dieses in verschiedenen multivariablen

Cox-Regression unter Berücksichtigung von Alter bei Erstdiagnose, Tumorgröße, Lymphknotenstatus und Adipositas nicht bestätigt werden ($p = 0,059$ bzw. $= 0,175$).

Somit kann in dieser Studie kein eindeutiger Einfluss von GPER-1 auf das Gesamtüberleben nachgewiesen werden. Da bisher keine vergleichbare Studie mit MBC-Patienten durchgeführt wurde, können nur Studien an weiblichen Patientinnen als Vergleich herangezogen werden.

In einer Studie von Ignatov et al. aus dem Jahr 2019 mit 251 FBC-Fällen konnte eine prognostisch günstige Wirkung von GPER-1 beobachtet werden (128). Auffällig ist jedoch, dass in dieser Studie bei einem Schwellenwert von $IRS \geq 3$ 80,9 % der Proben positiv waren. In einer anderen Studie von Ignatov et al. aus 2020 mit dem gleichen Schwellenwert wurde GPER-1 bei 77 % positiv ausgewertet (143). Beide Studien wurden im gleichen Labor mit der gleichen Färbemethodik wie diese MBC-Studie durchgeführt.

Eine Studie von Friese et al. mit 156 Fällen von Ovarialkarzinom ergab eine Korrelation zwischen einer zytoplasmatischen Expression von GPER-1 und einem verbesserten Gesamtüberleben. Hier wurde ein Schwellenwert von $IRS = 2$ verwendet und 82,7 % der Fälle waren GPER-1 positiv (144). Im Zellkulturexperiment und im Vergleich mit klinischen Daten konnten Schüler-Toprak et al. ähnliche Zusammenhänge beobachten (145).

Da in allen angesprochen Studien der positive GPER-1-Status deutlich häufiger war, als in den Daten dieser Studie, könnte man auf einen Unterschied in der Expression zwischen den Geschlechtern schließen. Es ist denkbar, dass GPER-1 bei Männern geringer exprimiert wird, und für einen positiven GPER-1-Status daher ein höherer Schwellenwert angewendet werden müsste. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass die Unterschiede durch technische Differenzen verursacht wurden, wie beispielsweise unterschiedliche Chargen des Antikörpers, unterschiedliche Fixierungsmethoden und Lagerungsbedingungen der Paraffinblöcke in den Studienzentren.

Bezüglich des RFS konnte in dieser Studie mittels der Kaplan-Meier-Analyse und der Cox-Regression kein signifikanter Zusammenhang zum GPER-1-Status festgestellt werden. Diese Ergebnisse stehen im Kontrast zu einer Studie von Ignatov et al. zum FBC, in der anhand einer Stichprobe von 323 Patientinnen ein positiver Zusammenhang zwischen einer höheren Expression von GPER-1 und einem besseren rezidivfreien Überleben festgestellt wurde (141). Allerdings lag in dieser Studie der Schwellenwert für einen GPER-1-positiven Status bei 2 und es waren 56,7 % der Proben positiv. Diese divergenten Ergebnisse könnten abermals durch den unterschiedlichen Schwellenwert bedingt sein, jedoch auch durch die geringere Fallzahl. Im Vergleich zu den bereits genannten Studien von Ignatov et al. (128, 143) ist die Rate von 56,7 % GPER-1-positiven Proben zudem eher gering.

Zudem wurde in dieser Studie von Ignatov et al. insbesondere untersucht, ob GPER-1 zu einer Tamoxifen-Resistenz beitragen kann, da Patientinnen, die Tamoxifen erhielten und eine positive GPER-1-Expression hatten, eine kürzere rezidivfreie Zeit aufwiesen als Patientinnen mit negativem GPER-1 Status (141). Da ein Großteil der Patienten in meiner Studie Tamoxifen erhielten, ist ein Vergleich dahingehend nur eingeschränkt möglich.

Es besteht jedoch auch die Vermutung von Luo et al., dass GPER-1 *in vivo* keine Rolle spielt (130). Sie führten dies auf die niedrige physiologische E₂-Konzentration und die geringere Bindungsaffinität von GPER-1 im Vergleich zu den klassischen ER zurück. Ergänzend dazu gibt die Mayo Clinic an, dass die E₂-Konzentration bei Männern mit 10 - 40 pg/mL deutlich niedriger ist als bei prämenopausalen Frauen, die bis zu 350 pg/mL erreichen kann, je nach Menstruationszyklus (146). Basierend auf diesen Argumenten könnten meine Ergebnisse darauf hindeuten, dass GPER-1 bei Männern keine signifikante Funktion als Östrogenrezeptor *in vivo* hat. Wie von Kang et al. vorgeschlagen wurde, könnte es sich bei GPER-1 auch um einen „Kofaktor“ von ER- α 36 handeln (133). Diese Hypothese lässt sich mit meiner Studie aber weder bestätigen noch widerlegen.

4.2 Klinisch-pathologische Ergebnisse

In den folgenden Abschnitten werden die Ergebnisse der klinisch-pathologischen Merkmale beleuchtet und diskutiert, ob ein Zusammenhang zur GPER-1-Expression besteht. Zusätzlich wird diskutiert, ob diese Merkmale einen Einfluss auf das OS und RFS hatten. Dabei werden nur relevante Ergebnisse behandelt. Aufgrund der begrenzten Fallzahl lassen sich bei einigen klinisch-pathologischen Faktoren keine definitiven Aussagen treffen. Diese umfassen Metastasierung (n = 6), durchgeführte Operationen (91,9 % Ablatio mammae) sowie die endokrine Therapie (78,9 % erhielten eine endokrine Therapie, davon 97,7 % Tamoxifen).

4.2.1 Ätiologie und Risikofaktoren

4.2.1.1 Alter

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass das durchschnittliche Alter bei Erstdiagnose 65,9 Jahre betrug. Dies korreliert mit vorherigen Studien, bei denen ein Mittelwert von 67 bzw. 68 Jahren angegeben wurde (10). Damit konnte bestätigt werden, dass das Alter bei Erstdiagnose bei Männern höher ist als bei Frauen (10).

In dieser Studie lag der Häufigkeitsgipfel bei 70 bis 75 Jahren, was innerhalb des in der Einleitung angesprochenen Gipfels von 68 bis 75 Jahren liegt (10). Diese Beobachtung stimmt mit den Ergebnissen von Anderson et al. überein, die durch Analyse der SEER-Datenbank mit

einer Kohorte von 1.456 Männern ebenfalls einen Gipfel von 71 Jahren festgestellt hatten (11). In Abbildung 9 wurde graphisch dargestellt, dass es sich um einen einzelnen Häufigkeitsgipfel handelt (siehe Seite 25), während bei Frauen typischerweise ein zweizeitiger Altersgipfel, in Abhängigkeit von der Menopause beschrieben wird (11).

Bemerkenswert ist, dass der Vergleich der Mittelwerte des Alters bei Erstdiagnose einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den GPER-Gruppen aufzeigte. GPER-positive Patienten sind bei Erstdiagnose etwa vier Jahre jünger gewesen als GPER-negative Patienten ($p = 0,018$). Ein ähnliches Ergebnis konnte bisher bei triple-negativen Brustkrebspatientinnen gezeigt werden (147). Da dieser Hormonrezeptorstatus bei keinem der Patienten vorlag, ist ein Vergleich nur eingeschränkt möglich. In weiteren Studien sollte daher der Zusammenhang zwischen GPER-1-Status und einem früheren Erkrankungsalter überprüft werden.

Mittels der Kaplan-Meier-Analyse konnte ein knapp signifikanter Einfluss des Alters bei Erstdiagnose auf die Überlebenswahrscheinlichkeit gezeigt werden ($p = 0,048$), welcher jedoch nicht in der uni- und multivariablen Cox-Regression bestand (siehe Tab. 11, 13, 14). Dies könnte darauf hindeuten, dass andere Faktoren, wie zum Beispiel der Lymphknotenstatus, einen stärkeren Einfluss auf das Gesamtüberleben haben.

Ein Einfluss des Alters bei Erstdiagnose auf die Rezidivwahrscheinlichkeit konnte über die Kaplan-Meier-Analyse sowie die univariable Cox-Regression nicht beobachtet werden (siehe Tab. 12, 13). Interessant ist jedoch, dass ein signifikanter Einfluss auf das rezidivfreie Überleben in der multivariablen Cox-Regression gezeigt wurde ($p = 0,037$, siehe Seite 39). Dies könnte darauf hinweisen, dass das Alter bei Erstdiagnose ein unabhängiger prognostischer Faktor ist.

4.2.1.2 Familienanamnese

In der Literatur wurde berichtet, dass etwa 15 - 20 % der männlichen Brustkrebspatienten eine positive Familienanamnese auf Brustkrebs aufweisen (14, 15). Eine frühere Studie von Hill et al. berücksichtigte ausschließlich Familienangehörige ersten Grades und hatte eine vergleichbare Anzahl an Patienten wie in dieser Studie ($n = 123$, diese Studie $n = 136$). Allerdings hatten 15 % der Patienten in der Studie von Hill et al. eine*n betroffene*n Familienangehörige*n, während in dieser Studie nur 9,6 % ($n = 13$) betroffen waren. In einer anderen Studie von Goss et al. wurden auch Familienangehörige bis zum dritten Grad als positive Familienanamnese gewertet und es waren 20 % der Männer betroffen, während es in dieser Studie 16,9 % waren. Möglicherweise können diese geringfügigen Unterschiede darauf zurückgeführt werden, dass die Studien unterschiedlich alt sind und sich die Datenerhebungsmethodik dadurch unterscheidet. Die Daten von Hill et al. wurden von 1973 bis 1994 gesammelt, während die hier vorliegenden Ergebnisse aktueller sind.

4.2.1.3 Gewicht

Mit 48,3 % lagen die meisten der in dieser Studie betrachteten Patienten im Bereich einer Präadipositas (Mittelwert \pm SD: $28,7 \pm 4,9$, Median: 27,8, IQR: 25,2 - 31,6), was über dem Wert von 44,0 % in der Normalbevölkerung liegt (148). Bei Patienten ab 65 Jahre lag 2010 der Anteil an Übergewichtigen bei 51,5 %. Da das mittlere Alter bei Erstdiagnose in dieser Studie bei 66 Jahre lag, ist der Anteil an übergewichtigen Patienten insgesamt vergleichbar mit dem der Durchschnittsbevölkerung.

Es konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen BMI und GPER-1-Expression gezeigt werden, weder über den Vergleich der BMI-Mittelwerte, noch durch den Einsatz des Chi-Quadrat-Tests oder des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen verschiedener experimenteller Studien, bei denen GPER-1-Knockout-Mäuse ein erhöhtes Körpergewicht aufwiesen (149). In einer Studie von Mårtensson konnte jedoch kein Einfluss von GPER-1 auf das Körpergewicht bei männlichen GPER-1-Knockout-Mäusen gezeigt werden (150). Es wäre wichtig, weitere klinische Studien mit größerer Fallzahl durchzuführen, um den gegenseitigen Einfluss von GPER-1 und Körpergewicht zu bewerten. Bei adipösen Patienten (BMI: $\geq 30 \text{ kg/m}^2$) konnte mittels der Kaplan-Meier-Analyse eine signifikant erniedrigte Überlebenswahrscheinlichkeit festgestellt werden ($p = 0,045$, siehe Tab. 17, Abb. 12). In der multivariablen Cox-Regression ließ sich dagegen nur ein statischer Trend zeigen ($p = 0,056$, siehe Tab. 29). Da beide Verfahren unterschiedliche Annahmen haben, könnte sich der Unterschied in der Signifikanz hieraus erklären lassen. Dies könnte darauf hindeuten, dass Adipositas als prognostischer Faktor betrachtet werden kann, aber andere Faktoren wie der Lymphknotenstatus einen größeren Einfluss darstellen. In einer Übersichtsarbeit von Carmichael wurde bereits ein erhöhtes Brustkrebsrisiko sowie eine erniedrigte Überlebenswahrscheinlichkeit bei adipösen Frauen beschrieben (151). Es scheint daher sinnvoll, Männern mit Brustkrebs eine Gewichtsreduktion nahezu legen. Im Zuge der anhaltenden „Adipositas Pandemie“ (152) ist möglicherweise mit einer weiterhin steigenden Inzidenz des MBC zu rechnen (42).

Interessant ist zudem, dass adipöse Patienten in den ersten 2 Jahren ein besseres OS hatten. Ein Phänomen in der Onkologie wird als das „Adipositas-Paradox“ bezeichnet, bei den Patient*innen mit einem BMI über dem Normalgewicht (Referenzwert: $22,5 \text{ kg/m}^2$) ein besseres OS aufweisen. Lennon et al. thematisierten dies in einer Übersichtsarbeit und führten verschiedene Erklärungsansätze an. Beispielsweise werden oft keine Informationen zum Gewichtsverlauf nach der Krebsdiagnose oder zu Störvariablen wie Rauchen oder Bewegungsmangel erhoben. Außerdem spielen Verzerrung durch Zufallsbefunde einer Krebserkrankung im Rahmen von Screeningprogrammen oder Gewichtsverlust vor der Erstdiagnose eine Rolle (153).

Für eine verbesserte Datenerhebung sollte man neben dem BMI deshalb Parameter wie Taillenumfang oder das Verhältnis von Hüft- zu Taillenumfang erheben sowie das Gewicht im Verlauf der Krankheit beobachten (153, 154).

4.2.2 Pathologie

4.2.2.1 Hormonrezeptorstatus

In dieser Studie wurde der Östrogenrezeptor bei 98,1 % und der Progesteronrezeptor bei 95,0 % der Proben als positiv ausgewertet. Die Angaben des ER-Wertes liegen dem einer von Cardoso et al. durchgeführten retrospektiven Studie mit 1054 MBC-Patienten am Nächsten, bei denen ein Wert von 99,3 % ermittelt wurde (69). Es kann damit weiterhin bestätigt werden, dass die Rate an ER-positiven Brustkrebsfällen bei Männern höher als bei Frauen ist.

Beim Progesteronrezeptor liegt der Wert dieser Studie von 95,0 % positiven Fällen über dem von Sarmiento et al. angegebenen Wert von 82,6 % (71). Der in dieser Studie beobachtete Wert liegt im Bereich einer von Rayson et al. durchgeführten Studie, die einen PR-positiven Wert bei 96 % von 111 Männern mit Brustkrebs beschrieben haben (155). Damit kann bestätigt werden, dass auch dieser Rezeptor deutlich häufiger positiv als bei Frauen ausgeprägt ist. Zum Vergleich haben Anderson et al. und Meijer-van Gelder bei Frauen einen Wert von 62,4 % bis 76 % gezeigt (11, 70).

Interessanterweise wurden bei zwei Patienten (1,24 %) eine ER-negative und PR-positive Kombination festgestellt. Bei weiblichen Brustkrebspatientinnen geht man davon aus, dass dieser Typ eine Rarität oder ein technisches Artefakt darstellt. In Studien von Cserni et al. und Helmi et al. war dieser Typ nur in einem von 182 möglichen Fällen vorhanden bzw. überhaupt nicht reproduzierbar (156, 157). Es besteht daher eine hohe Wahrscheinlichkeit, dass es sich bei den Fällen in meiner Studie ebenfalls um Artefakte handelt.

Es konnte keine Korrelation zwischen der Expression von ER bzw. PR und GPER-1 festgestellt werden (ER: $p = 1,000$, PR: $p = 1,000$). Dies steht im Kontrast zu den Ergebnissen von Sjöström et al. und Ignatov et al., die eine positive Korrelation zwischen ER- bzw. PR-Status und GPER-1-Ausprägung bei Frauen zeigen konnten (127, 128). Möglicherweise hat der häufig positive Hormonrezeptorstatus bei Männern und die daraus resultierende geringe Anzahl von ER-negativen Vergleichsfällen eine Rolle bei der nicht nachweisbaren Korrelation gespielt. Eine alternative Analyse zur Untersuchung einer Korrelation zwischen dem GPER-IRS und dem ER- bzw. PR-Score war nicht möglich, da in den vorliegenden Studiendaten der ER- bzw. PR-Status teilweise nur binär (positiv oder negativ) erfasst war und keine quantitativen ER-Werte vorlagen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit ergaben einen Anteil von 13,1 % positiver HER2/neu-Tumore, was konsistent ist zu den Daten einer Studie von Rudlowski et al. aus Deutschland, in der

15,1 % von 99 MBC-Patienten HER2/neu positiv waren (158). Allerdings wichen die Ergebnisse von der bereits erwähnten Studie von Cardoso et al. (8,6 % positive Fälle) sowie von Ottini et al. aus Italien mit 184 Probanden (28,4 % positive Fälle) von den hier festgestellten Prozentzahlen ab (27, 69). Denkbar wäre deshalb ein regionaler Unterschied in der Ausprägung des HER2/neu-Status.

Es konnte keine signifikante Assoziation zwischen HER2/neu-Status und GPER-1-Ausprägung gezeigt werden (Exakter Test nach Fisher: $p = 0,486$). Damit lässt sich ein positiver Zusammenhang zwischen GPER-1-Status und HER2/neu-Ausprägung, wie ihn Filardo et al. bei 361 Frauen zeigen konnten, in dieser Studie nicht bestätigen (126). Möglicherweise könnte der Unterschied durch die verschiedenen Stichprobengrößen zustande gekommen sein oder es könnte sich um einen Unterschied zwischen MBC und FBC handeln.

Als triple-positiv ließen sich in dieser Studie 9,4 % ($n = 15$) der Fälle klassifizieren, was identisch mit dem Wert einer Übersichtsarbeit von Giordano ist (60). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass triple-negative Mammakarzinome bei Männern eine Rarität darstellen, wie von Cardoso et al. beschrieben (69), da bei keinem der Probanden in dieser Studie ein solcher Status festgestellt werden konnte.

4.2.2.2 Histopathologische Typen

Das invasive Karzinom NST trat in dieser Studie bei 82,6 % der Patienten auf. Dieser Wert ist vergleichbar mit einer von Doebar et al. durchgeführten internationalen Studie, bei der 84,6 % Patienten von 1.328 Patienten ein invasives Karzinom NST hatten (159). Der in der Einleitung beschriebene Rahmen von 85 - 95 % der Fälle (55, 75) wurde nicht erreicht. Dies könnte auf die Unterteilung von „invasivem Karzinom NST und DCIS“ als eigenständige Gruppe zurückzuführen sein, was in früheren Studien beispielsweise von Ribeiro et al. sowie Masci et al. nicht vorgenommen wurde (55, 75). Rechnet man diese Fälle zur Gruppe „Invasiv NST“ hinzu, lag der prozentuale Anteil bei 89,4 %, was innerhalb des angesprochenen Rahmens liegt. Histologische Typen wie das invasiv papilläre Karzinom (1,9 %), das muzinöse Karzinom (1,9 %) und das kribiforme Karzinom (0,6 %) konnten nur vereinzelt nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse stimmen mit den in früheren Studien von Cardoso et al., Doebar et al. sowie Ribeiro et al. ermittelten prozentualen Anteilen überein (55, 69, 159). Es kann darüber hinaus bestätigt werden, dass sich der invasiv lobuläre Typ bei Männern seltener als bei Frauen diagnostizieren lässt (0,6 %), was in Übereinstimmung mit den Studien von Cardoso et al. sowie Doebar et al. steht (69, 159). Es konnte keine signifikante Korrelation zwischen GPER-Status und den histopathologischen Typen festgestellt werden. Dies könnte aufgrund der geringen Fallzahl seltener Entitäten der Fall sein. Ein möglicher Zusammenhang wurde in der Literatur bislang nicht beschrieben.

4.2.2.3 TNM

4.2.2.3.1 Tumorstatus (T)

Es ergab sich keine signifikante Korrelation zwischen dem GPER-1- und dem Tumorstatus ($p = 0,162$). Diese Ergebnisse bestätigen die Beobachtung von Tu et al., die in einer Studie mit 241 Proben von chinesischen Frauen ebenfalls keine Korrelation feststellen konnten (160). Interessanterweise hatten GPER-1-positive Patienten jedoch häufiger eine Tumorgöße unter 2 cm (59,3 %), während bei GPER-1-negativen Patienten häufiger eine Tumorgöße über 2 cm beobachtet werden konnte (57,1 %). Über den Exakten Test nach Fisher konnte aber nur ein statistischer Trend gezeigt werden ($p = 0,093$). Im Vergleich konnte die bereits erwähnten Studie von Filardo et al. zum FBC eine Tumorgöße über 2 cm mit einem GPER-1-positiven Status assoziieren ($p = 0,05$) (126). Es ist jedoch zu beachten, dass Filardo et al. Proben von Frauen untersuchten und den GPER-1-Status ausschließlich anhand der Färbungsausdehnung beurteilten. Eine Färbungsausdehnung ab 10-50 % positiver Zellen wurde als GPER-1-positiver Status definiert. Im Gegensatz zu meiner Studie wurde die Färbungsintensität nicht beurteilt und es wurde kein IRS ermittelt, was einen Erklärungsansatz für die unterschiedlichen Ergebnisse bieten könnte.

In einer früheren Studie von Giordano et al. aus dem Jahr 2004 betrug die 5-Jahres-Überlebensrate von 2.537 Männern mit einem Tumor unter 2 cm 74 %, während in dieser Studie eine Steigerung auf 85,5 % festgestellt wurde (5). Übereinstimmend mit Giordano et al. wurde berechnet, dass die Tumorgöße ein Prognosefaktor der Überlebenswahrscheinlichkeit ist (Cox-Regression: $p = 0,014$, HR = 3,001).

4.2.2.3.2 Lymphknotenstatus (N)

Mithilfe des Chi-Quadrat-Tests konnte in dieser Studie gezeigt werden, dass bei GPER-1-negativen Patienten signifikant häufiger ein pN0-Status vorlag, während bei GPER-1-positiven Patienten häufiger der Status pN1 und pN2 beobachtet wurde ($p = 0,041$). Eine mögliche Interpretation ist, dass ein GPER-1-positiver Status zu einem fortgeschritteneren Lymphknotenstatus beitragen könnte. Dem steht gegenüber, dass das Stadium pN3 ausschließlich in der Gruppe der GPER-1-negativen Patienten vorkam ($n = 6$). Möglicherweise ist dies durch die geringe Stichprobengröße bedingt, es ist jedoch auch denkbar, dass das höhere Alter bei Erst-diagnose in der GPER-1-negativen Gruppe (vier Jahre höher) eine Rolle gespielt hat. Über den Chi-Quadrat Test ließ sich jedoch keine Korrelation diesbezüglich beobachten. Bezüglich des pT-Stadiums konnte kein Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt werden. Nach der Aufteilung in keinen bzw. niedrigen gegenüber höheren Lymphknotenbefall (pN0 & pN1 vs. pN2 & pN3) wurde kein Unterschied zwischen den GPER-Gruppen festgestellt ($p = 0,823$). Insgesamt scheint GPER-1 keine eindeutige Rolle in Bezug auf den Lymphknotenstatus zu

spielen, obwohl ein positiver GPER-1-Status auf einen höheren Lymphknotenbefall hinweisen könnte, da das Stadium pN0 signifikant seltener vorkam.

In Bezug auf die Überlebenswahrscheinlichkeit wurde gezeigt, dass der Lymphknotenstatus einen signifikanten Einfluss hat ($p < 0,001$), insbesondere bei höhergradigem Befall ($p < 0,001$, 5-YSR: 84,7 % vs. 48,7 %, siehe Tab. 26, Abb. 18). Ein signifikanter Einfluss auf die Rezidivwahrscheinlichkeit konnte ebenfalls gezeigt werden ($p < 0,001$, siehe Tab. 27). Diese Beobachtungen wurden bereits in einer Übersichtsarbeit von Ruddy et al. beschrieben (161).

4.2.2.3.3 Grading (G)

Es konnte kein Zusammenhang zwischen dem Tumorgrading und dem GPER-Status festgestellt werden ($p = 0,558$). Eine vorherige Studie von Ignatov et al. zeigte jedoch einen signifikanten Zusammenhang zwischen niedrigem Tumorgrading und einem GPER-positiven Status bei 442 Frauen, wobei der GPER-1-Trennwert bei ≤ 3 lag (128). Dies stellt einen methodischen Unterschied dar, jedoch könnten die Ergebnisse auch auf einen Unterschied zwischen MBC und FBC hindeuten, der weiter analysiert werden sollte.

In dieser Studie lag hauptsächlich der Tumorgrad G2 vor (59,0 %), was sich mit den Ergebnissen von Cardoso et al. deckt (51,5 %) (69). Weder in meiner Arbeit noch der Studie von Cardoso et al. konnte ein Einfluss des Grading auf die Überlebens- und Rezidivwahrscheinlichkeit festgestellt werden. In der zuvor erwähnten Studie von Giordano aus dem Jahr 2004 korrelierte ein hohes Tumorgrading zwar mit einer schlechten Überlebenswahrscheinlichkeit, ist aber kein unabhängiger Prognosefaktor in der multivariablen Analyse gewesen (5).

4.2.3 Therapie

4.2.3.1 Operation

Die vorliegenden Daten zeigen Ähnlichkeiten zu der Studie von Cardoso et al. und belegen, dass die Ablatio mammae, die am häufigsten durchgeführte Operation bei männlichen Brustkrebspatienten war (69). Bei weiblichen Brustkrebspatientinnen wird dagegen in frühen Krebsstadien eine Kombination aus BET und Radiatio als Alternative zur Ablatio durchgeführt (162). Eine Interpretation des OS und RFS ist in Bezug auf die durchgeführte Operation nicht möglich gewesen, da über 90 % der Patienten eine Ablatio mammae erhielten.

4.2.3.2 Operative Therapie der Axilla

Bezogen auf die Überlebens- und die Rezidivwahrscheinlichkeit, zeigte die SNB signifikant bessere Ergebnisse als die Axilladisektion oder die Kombination aus beiden Verfahren ($p = 0,003$, bzw. $p = 0,028$). Es ist jedoch zu beachten, dass die SNB in erster Linie ein diag-

nostisches Verfahren ist und sich hieraus nicht automatisch ein Vorteil ableiten lässt. Außerdem wurde mittels der multivariablen Cox-Regression festgestellt, dass der Lymphknotenstatus (pN1 & pN2 vs. pN3 & pN4) einen signifikanten Zusammenhang mit OS und RFS hatte, während SNB und Axilladisektion hier nicht mehr signifikant waren. Da laut Leitlinie die SNB bei einem Verdacht auf fortgeschrittene Lymphknotenbeteiligung nicht indiziert ist (68), bestätigt dies den Stellenwert des Lymphknotenstatus bei der Therapieplanung des MBC.

4.2.3.3 Strahlentherapie

Eine Studie von Eggemann et al. untersuchte 664 MBC-Fälle aus dieser Registerstudie und stellte fest, dass eine Strahlentherapie nach Mastektomie nur bei Patienten im Stadium 3 zu einem Überlebensvorteil führte (163). In Bezug auf alle Tumorstadien konnte kein Überlebensvorteil durch eine postoperative Radiatio gezeigt werden. Diese Arbeit ergab ähnliche Ergebnisse, da bezogen auf alle Tumorstadien kein Überlebensvorteil durch eine Strahlentherapie beobachtet werden konnte ($p = 0,694$).

4.2.4 Prognose

Die 5-Jahres-Überlebensrate betrug in dieser Studie 77,9 % und stimmt damit weitgehend mit den Ergebnissen von Sarmiento et al. aus dem Jahr 2020 überein, die eine 5-JÜR von 77,7 % bei 16.498 Patienten berichteten (71). Diese Ergebnisse zeigen einen signifikanten Anstieg der 5-JÜR seit einer Übersichtsarbeit von Fentimen aus dem Jahr 2006, die damals bei 40 bis 65 % lag (51).

4.3 Kritische Beurteilung der Studie

Diese Studie ist die erste, die einen Einfluss von GPER-1 auf Brustkrebs bei Männern analysiert. Die größte Einschränkung dieser Studie ist, dass die Kohorte nach dem minimal-p-Ansatz aufgeteilt wurde, was laut Altman et al. zu einem Typ-I-Fehler führen kann (142). Aufgrund dieser Methode wurde der Schwellenwert für ein positives GPER-1-Ergebnis auf ≤ 4 gelegt, anstatt eine Aufteilung am Median durchzuführen, was zu einer annähernd gleichen Gruppengröße geführt hätte. Nach Anpassung durch einen Permutationstest wurde der Typ-I-Fehler minimiert, es konnte anschließend jedoch kein signifikanter Einfluss von GPER-1 auf die Überlebenswahrscheinlichkeit gezeigt werden.

Zur Auswertung des GPER-1-Status kam mit dem IRS ein semiquantitatives Verfahren zur Anwendung, was mit Limitationen einhergeht. So ist die Einschätzung der Färbungsausdehnung und Färbungsintensität von subjektiver Einschätzung abhängig. Außerdem könnten durch die Auswertung feine Unterschiede des GPER-1-Wertes nicht erfasst werden. Eine Alternative zum IRS wäre beispielsweise eine digitale Bildanalyse mit verbesserter Bestimmung der Färbeintensität oder eine Immunhistochemie kombiniert mit einer Western-Blot Analyse, was bereits in einigen Studien durchgeführt wurde (164, 165).

Eine Validität der Ergebnisse der GPER-1-Auswertung kann jedoch aufgrund der etablierten Verwendung der GPER-1-Färbung und -Auswertung am Institut für Pathologie angenommen werden. Dennoch wurden die Proben über mehrere Jahre in Paraffin gelagert, was möglicherweise die Qualität beeinträchtigt haben könnte.

Da es sich beim MBC um eine seltene Erkrankung handelt, konnte durch die relativ hohe Fallzahl von 161 Patienten und den multizentrischen Aufbau eine solide externe Validität erreicht werden. Es ist jedoch anzumerken, dass die Patientenzahl trotzdem begrenzt war und dass nicht alle Verstorbenen eindeutig als Todesfälle aufgrund von MBC identifiziert werden konnten. Von den 27 Todesfällen konnten nur 11 dem MBC zugeordnet werden, bei 11 Fällen war keine nähere Angabe zu den Todesumständen verfügbar (siehe Anhang Tab. 67). Diese Todesfälle lassen sich nicht eindeutig dem MBC zuordnen und erschweren somit die Interpretation des OS. In der Gruppe der GPER-1-positiven Patienten wurden insgesamt 65 Probanden eingeschlossen, von denen jedoch nur 61 für die Kaplan-Meier-Analyse herangezogen werden konnten. Die begrenzte Fallzahl und die Unklarheit bezüglich der Todesumstände könnten die Validität der Ergebnisse beeinträchtigt haben.

Zusätzlich waren bei einigen klinisch-pathologischen Parametern die Daten unvollständig, was eine Interpretation einiger Ergebnisse erschwerte. Da es sich bei der vorliegenden Studie um eine retrospektive Analyse von Patientendaten handelt, war eine Vervollständigung der Daten nur im Falle der Hormonrezeptoren möglich. Es ist zudem nicht möglich zu beurteilen, welche Faktoren zu bestimmten klinischen Entscheidungen geführt haben. Eine Interpretation des OS und RFS von der operativen Therapie und der endokrinen Therapie ist aufgrund dieser Limitation und der geringen Fallzahl nicht möglich gewesen.

Weiterhin konnte aufgrund der geringen Patientenzahl und der teilweise kurzen Beobachtungszeit meistens nur der Mittelwert des Überlebens- bzw. der rezidivfreien Zeit in den Kaplan-Meier-Analysen angegeben werden. Der Median oder die 75 %-Perzentile wären weniger anfällig für Ausreißer gewesen und würden auch bei nicht normalverteilten Überlebenszeiten eine geeignetere Schätzung darstellen, konnten aber meist nicht berechnet werden.

4.4 Ausblick

Im Jahr 2017 konnte von Vaclova et al. eine MBC-Zelllinie etabliert werden (166), die für diese Arbeit jedoch nicht zur Verfügung stand. Falls eine solche Zelllinie verfügbar wäre, wäre es von großem Interesse diese auf die Bedeutung von GPER-1 zu untersuchen. Dadurch könnten Vergleiche zu den bereits vorhandenen Studien an Zelllinien wie SkBr3 und MCF-7 gezogen werden. Außerdem wäre es interessant herauszufinden, ob in GPER-1 in männlichen Brustkrebszellen bei physiologischen E_2 -Konzentrationen aktiv ist. Zusätzlich wäre es von Bedeutung, die Funktion von ER- α 36 bei den nicht-genomischen Wirkungen von E_2 zu untersuchen und ein vollständigeres Bild der Interaktion zwischen GPER-1 und ER- α 36 zu erhalten.

Es könnte darüber hinaus sinnvoll sein, die Tumoren in einer weiteren Studie auf eine BRCA1/2-Mutation zu untersuchen, um einen Beitrag zur Prävalenz dieser Mutationen beim MBC zu leisten. In einer Arbeit von Rizzolo et al. wird vermutet, dass bei etwa 10 % der MBC-Fälle eine Genmutation zur Ätiopathogenese beigetragen hat (16). Weiterhin wäre es interessant zu überprüfen, ob Patienten mit einer positiven Familienanamnese auf Brustkrebs häufiger Mutationen aufweisen, als Patienten ohne erkrankte Verwandte. Falls ein solcher Zusammenhang besteht, wäre es relevant, die spezifischen Mutationen zu identifizieren.

Darüber hinaus wäre es wichtig in zukünftigen Studien zum MBC mehr Variablen zu erheben bzw. diese genauer zu definieren. Deutlich wurde dies im Falle der Todesursache, die teilweise nicht genauer bezeichnet wurden und dem BMI („Adipositas-Paradox“).

5 Zusammenfassung

Das Mammakarzinom des Mannes (MBC) eine seltene Erkrankung. In der Forschung wurde der G-Protein-gekoppelte-Östrogenrezeptor 1 (GPER-1) mit einer erhöhten Tumorgroße und Metastasierung korreliert. Dagegen wurde GPER-1 jedoch auch mit einer verbesserten Überlebenswahrscheinlichkeit, insbesondere bei Mammakarzinomen, in Verbindung gebracht.

In dieser Studie wurde die Expression von GPER-1 bei männlichen Patienten mit primärem Brustkrebs untersucht. Dazu wurden 161 Proben retrospektiv analysiert, die zwischen 2009 und 2018 gesammelt wurden. Eine GPER-1-Expression von ≥ 4 wurde als positives Ergebnis definiert und ein Einfluss dieser Expression auf klinisch-pathologische Parameter wurde mittels des Chi-Quadrat-Tests bzw. Exakten Tests nach Fisher und dem Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman-Rho berechnet. Das Gesamt- und das rezidivfreie Überleben der Patienten wurde mithilfe der Kaplan-Meier-Methode sowohl für die GPER-1-Expression, als auch für die klinisch-pathologischen Parameter berechnet. Darüber hinaus wurden uni- und multivariable Cox-Regressionen durchgeführt.

In 40,4 % der Proben konnte eine positive GPER-1-Expression nachgewiesen werden. Ein GPER-1-positiver Status war mit einer signifikant reduzierten Anzahl von Todesfällen ($p = 0,033$), jedoch nicht mit einer signifikant verbesserten Gesamtüberlebensrate (nach Permutationstest: $p = 0,109$) assoziiert. Es wurde kein Zusammenhang zwischen GPER-1 und RFS beobachtet. Obwohl die univariable Cox-Regression GPER-1 als potenziell prognostisch relevanten Faktor für das Gesamtüberleben identifizierte ($p = 0,036$), zeigte die multivariable Cox-Regression keinen Einfluss von GPER-1 auf das Gesamt- und das rezidivfreie Überleben. Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um die Rolle von GPER-1 als prognostischen Faktor zu klären. Es wurde ein signifikanter Einfluss von GPER-1 auf das Alter bei Erstdiagnose und den Lymphknotenstatus festgestellt, jedoch kein Zusammenhang zu BMI, Hormonrezeptorstatus, histopathologischen Typen, Tumorgroße, Metastasierung, Grading oder durchgeführten Therapien.

Die Überlebenswahrscheinlichkeit der Patienten wurde signifikant durch Adipositas, Tumorgroße und Lymphknotenstatus beeinflusst. Bezogen auf die Rezidivwahrscheinlichkeit hatten Lymphknotenstatus und Metastasierung einen signifikanten Einfluss. In der multivariablen Cox-Regression erwies sich der Lymphknotenstatus als signifikanter Einflussfaktor sowohl für das Gesamtüberleben als auch für das rezidivfreie Überleben. Hingegen wurde lediglich ein signifikanter Einflussfaktor auf das rezidivfreie Überleben in Bezug auf das Alter bei Erstdiagnose festgestellt.

Literaturverzeichnis

1. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg): Krebs in Deutschland für 2015 / 2016. 12. Ausgab. 78–81 (2019)
2. Jemal A, Murray T, Samuels A, Ghafoor A, Ward E, Thun MJ: Cancer Statistics, 2003. CA: A Cancer Journal for Clinicians. 53. 5–26 (2003)
3. Siegel RL, Miller KD, Jemal A: Cancer statistics, 2020. CA: A Cancer Journal for Clinicians. 70. 7–30 (2020)
4. Gucaip A, Traina TA, Eisner JR, Parker JS, Selitsky SR, Park BH, Elias AD, Baskin-Bey ES, Cardoso F: Male breast cancer: a disease distinct from female breast cancer. Breast cancer research and treatment. 173. 37–48 (2019)
5. Giordano SH, Cohen DS, Buzdar AU, Perkins G, Hortobagyi GN: Breast carcinoma in men: A population-based study. Cancer. 101. 51–57 (2004)
6. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Miller D, Bishop K, Altekruse SF, Kosary CL, Yu M, Ruhl J, Tatalovich Z, Mariotto A, Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ CK (eds): SEER Cancer Statistics Review 1975-2013 National Cancer Institute. http://seer.cancer.gov/csr/1975_2013/, based on November 2015 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2016. 1–38 (2016)
7. Speirs V, Shaaban AM: The rising incidence of male breast cancer. Breast Cancer Research and Treatment. 115. 429–430 (2009)
8. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg): Krebs in Deutschland für 2011 / 2012. 10. Ausgab. 2015.
9. Erdmann F, Spix C, Katalinic A, Christ M, Folkerts J, Hansmann J, Kranzhöfer K, Kunz B, Manegold K, Penzkofer A, Tremel K, Vollmer G, Weg-Remers S, Barnes B, Buttman-Schweiger N, Dahm S, Fiebig J, Franke M, Gurung-Schönfeld I, Haberland J, Imhoff M, Kraywinkel K, Starker A, von Berenberg-Gossler P, Wienecke A: Krebs in Deutschland für 2017/2018 (2021)
10. Korde LA, Zujewski JA, Kamin L, Giordano S, Domchek S, Anderson WF, Bartlett JMS, Gelmon K, Nahleh Z, Bergh J, Cutuli B, Pruneri G, McCaskill-Stevens W, Gralow J, Hortobagyi G, Cardoso F: Multidisciplinary meeting on male breast cancer: Summary and research recommendations. Journal of Clinical Oncology. 28. 2114–2122 (2010)
11. Anderson WF, Althuis MD, Brinton LA, Devesa SS: Is Male Breast Cancer Similar or Different than Female Breast Cancer? Breast Cancer Research and Treatment. 83. 77–86 (2004)
12. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer: Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58 209 women with breast cancer and 101 986 women without the disease. The Lancet. 358. 1389–1399 (2001)
13. Ewertz M, Holmberg L, Tretli S, Pedersen B V, Kristensen A: Risk Factors for Male Breast Cancer? A Case-Control Study from Scandinavia. Acta Oncologica. 40. 467–471 (2001)

14. Hill A, Yagmur Y, Tran KN, Bolton JS, Robson M, Borgen PI: Localized male breast carcinoma and family history. *Cancer*. 86. 821–825 (1999)
15. Goss PE, Reid C, Pintilie M, Lim R, Miller N: Male breast carcinoma. *Cancer*. 85. 629–639 (1999)
16. Rizzolo P, Silvestri V, Tommasi S, Pinto R, Danza K, Falchetti M, Gulino M, Frati P, Ottini L: Male breast cancer: Genetics, epigenetics, and ethical aspects. *Annals of Oncology*. 24. viii75–viii82 (2013)
17. National Comprehensive Cancer Network: NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Genetic / Familial High-Risk Assessment: Breast, Ovarian, and Pancreatic. Version 1 (2023)
18. Yuan SSF, Lee SY, Chen G, Song M, Tomlinson GE, Lee EYHP: BRCA2 is required for ionizing radiation-induced assembly of Rad51 complex in vivo. *Cancer Research*. 59. 3547–3551 (1999)
19. Friedman LS, Gayther SA, Kurosaki T, Gordon D, Noble B, Casey G, Ponder BAJ, Anton-Culver H: Mutation analysis of BRCA1 and BRCA2 in a male breast cancer population. *American Journal of Human Genetics*. 60. 313–319 (1997)
20. Thompson D, Easton D: The genetic epidemiology of breast cancer genes. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. 9. 221–236 (2004)
21. McClain MR, Palomaki GE, Nathanson KL, Haddow JE: Adjusting the estimated proportion of breast cancer cases associated with BRCA1 and BRCA2 mutations: Public health implications. *Genetics in Medicine*. 7. 28–33 (2005)
22. Venkitaraman AR: Cancer susceptibility and the functions of BRCA1 and BRCA2. *Cell*. 108. 171–182 (2002)
23. Narod SA, Foulkes WD: BRCA1 and BRCA2: 1994 and beyond. *Nature Reviews Cancer*. 4. 665–676 (2004)
24. Liede A, Karlan BY, Narod SA: Cancer Risks for Male Carriers of Germline Mutations in BRCA1 or BRCA2: A Review of the Literature. *Journal of Clinical Oncology*. 22. 735–742 (2004)
25. Levy-Lahad E, Friedman E: Cancer risks among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *British Journal of Cancer*. 96. 11–15 (2007)
26. Sousa B, Moser E, Cardoso F: An update on male breast cancer and future directions for research and treatment. *European Journal of Pharmacology*. 717. 71–83 (2013)
27. Ottini L, Silvestri V, Rizzolo P, Falchetti M, Zanna I, Saieva C, Masala G, Bianchi S, Manoukian S, Barile M, Peterlongo P, Varesco L, Tommasi S, Russo A, Giannini G, Cortesi L, Viel A, Montagna M, Radice P, Palli D: Clinical and pathologic characteristics of BRCA-positive and BRCA-negative male breast cancer patients: results from a collaborative multicenter study in Italy. *Breast Cancer Research and Treatment*. 134. 411–418 (2012)
28. Ford D, Easton DF, Stratton M, Narod S, Goldgar D, Devilee P, Bishop DT, Weber B, Lenoir G, Chang-Claude J, Sobol H, Teare MD, Struewing J, Arason A, Scherneck S, Peto J, Rebbeck TR, Tonin P, Neuhausen S, Barkardottir R, Eyfjord J, Lynch H, Ponder BAJ, Gayther SA, Birch JM, Lindblom A, Stoppa-Lyonnet D, Bignon Y, Borg A, Hamann U, Haites N, Scott RJ, Maugard CM, Vasen H, Seitz S, Cannon-Albright LA, Schofield A, Zelada-

- Hedman M: Genetic Heterogeneity and Penetrance Analysis of the BRCA1 and BRCA2 Genes in Breast Cancer Families. *The American Journal of Human Genetics*. 62. 676–689 (1998)
29. Tai YC, Domchek S, Parmigiani G, Chen S: Breast Cancer Risk Among Male BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 99. 1811–1814 (2007)
30. Thompson D, Easton D: Variation in Cancer Risks, by Mutation Position, in BRCA2 Mutation Carriers. *The American Journal of Human Genetics*. 68. 410–419 (2001)
31. Fackenthal JD, Marsh DJ, Richardson A-L, Cummings SA, Eng C, Robinson BG, Olopade OI: Male breast cancer in Cowden syndrome patients with germline *PTEN* mutations. *Journal of Medical Genetics*. 38. 159 LP – 164 (2001)
32. Ruddy KJ, Winer EP: Male breast cancer: risk factors, biology, diagnosis, treatment, and survivorship. *Annals of Oncology*. 24. 1434–1443 (2013)
33. Rohrmann S, Shiels MS, Lopez DS, Rifai N, Nelson WG, Kanarek N, Guallar E, Menke A, Joshi CE, Feinleib M, Sutcliffe S, Platz EA: Body fatness and sex steroid hormone concentrations in US men: results from NHANES III. *Cancer Causes & Control*. 22. 1141–1151 (2011)
34. Dhindsa S, Miller MG, McWhirter CL, Mager DE, Ghanim H, Chaudhuri A, Dandona P: Testosterone Concentrations in Diabetic and Nondiabetic Obese Men. *Diabetes Care*. 33. 1186–1192 (2010)
35. Chumsri S, Howes T, Bao T, Sabnis G, Brodie A: Aromatase, aromatase inhibitors, and breast cancer. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 125. 13–22 (2011)
36. Vermeulen A, Kaufman JM, Goemaere S, Van Pottelberg I: Estradiol in elderly men. *The Aging Male*. 5. 98–102 (2002)
37. Hsing AW, McLaughlin JK, Cocco P, Co Chien HT, Fraumeni JF: Risk Factors for Male Breast Cancer (United States). *Cancer Causes & Control*. 9. 269–275 (1998)
38. Thomas DB, Margarita Jimenez L, McTieman A, Rosenblatt K, Stalsberg H, Stemhagen A, Douglas Thompson W, McCrea Curnen MG, Satariano W, Austin DF, Greenberg RS, Key C, Kolonel LN, West DW: Breast Cancer In Men: Risk Factors with Hormonal Implications. *American Journal of Epidemiology*. 135. 734–748 (1992)
39. Keinan-Boker L, Levine H, Leiba A, Derazne E, Kark JD: Adolescent obesity and adult male breast cancer in a cohort of 1,382,093 men. *International Journal of Cancer*. 142. 910–918 (2018)
40. Ogden CL, Yanovski SZ, Carroll MD, Flegal KM: The Epidemiology of Obesity. *Gastroenterology*. 132. 2087–2102 (2007)
41. Klinefelter HF, Reifenstein EC, Albright F: Syndrome Characterized by Gynecomastia, Aspermatogenesis without A-Leydigism, and Increased Excretion of Follicle-Stimulating Hormone. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2. 615–627 (1942)
42. Fentiman IS: The endocrinology of male breast cancer. *Endocrine-Related Cancer*. 25. R365–R373 (2018)

43. Brinton LA, Key TJ, Kolonel LN, Michels KB, Sesso HD, Ursin G, Van Den Eeden SK, Wood SN, Falk RT, Parisi D, Guillemette C, Caron P, Turcotte V, Habel LA, Isaacs CJ, Riboli E, Weiderpass E, Cook MB: Prediagnostic sex steroid hormones in relation to male breast cancer risk. *Journal of Clinical Oncology*. 33. 2041–2050 (2015)
44. Swerdlow AJ, Schoemaker MJ, Higgins CD, Wright AF, Jacobs PA, Group on behalf of the UKCC: Cancer Incidence and Mortality in Men with Klinefelter Syndrome: A Cohort Study. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 97. 1204–1210 (2005)
45. Sasco AJ, Lowenfels AB, Jong PP: Review article: Epidemiology of male breast cancer. A meta-analysis of published case-control studies and discussion of selected aetiological factors. *International Journal of Cancer*. 53. 538–549 (1993)
46. Dershaw DD, Borgen PI, Deutch BM, Liberman L: Mammographic findings in men with breast cancer. *AJR. American journal of roentgenology*. 160. 267–270 (1993)
47. Thellenberg C, Malmer B, Tavelin B, Grönberg H: Second Primary Cancers in Men With Prostate Cancer: An Increased Risk of Male Breast Cancer. *The Journal of Urology*. 169. 1345–1348 (2003)
48. Contractor KB, Kaur K, Rodrigues GS, Kulkarni DM, Singhal H: Male breast cancer: Is the scenario changing. *World Journal of Surgical Oncology*. 6. 1–11 (2008)
49. Johansen Taber KA, Morisy LR, Osbahr AJ, Dickinson BD: Male breast cancer: risk factors, diagnosis, and management. *Oncology reports*. 24. 1115–1120 (2010)
50. Ron E, Ikeda T, Preston DL, Tokuoka S: Male breast cancer incidence among atomic bomb survivors. *Journal of the National Cancer Institute*. 97. 603–605 (2005)
51. Fentiman IS, Fourquet A, Hortobagyi GN: Male breast cancer. *The Lancet*. 367. 595–604 (2006)
52. Brinton LA, Carreon JD, Gierach GL, McGlynn KA, Gridley G: Etiologic factors for male breast cancer in the U.S. Veterans Affairs medical care system database. *Breast Cancer Research and Treatment*. 119. 185–192 (2010)
53. Cook MB, Guénel P, Gapstur SM, Van Den Brandt PA, Michels KB, Casagrande JT, Cooke R, Van Den Eeden SK, Ewertz M, Falk RT, Gaudet MM, Gkiokas G, Habel LA, Hsing AW, Johnson K, Kolonel LN, La Vecchia C, Lynge E, Lubin JH, McCormack VA, Negri E, Olsson H, Parisi D, Petridou ET, Riboli E, Sesso HD, Swerdlow A, Thomas DB, Willett WC, Brinton LA: Tobacco and alcohol in relation to male breast cancer: An analysis of the male breast cancer pooling project consortium. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*. 24. 520–531 (2015)
54. Xue F, Willett WC, Rosner BA, Hankinson SE, Michels KB: Cigarette Smoking and the Incidence of Breast Cancer. *Archives of Internal Medicine*. 171. 125–133 (2011)
55. Ribeiro GG, Swindell R, Harris M, Banerjee SS, Cramer A: A review of the management of the male breast carcinoma based on an analysis of 420 treated cases. *The Breast*. 5. 141–146 (1996)
56. Borgen PI, Wong GY, Vlamis V, Potter C, Hoffmann B, Kinne DW, Osborne MP, McKinnon WMP: Current management of male breast cancer: A review of 104 cases. *Annals of Surgery*. 215. 451–459 (1992)
57. Scheike O: Male breast cancer: 5. Clinical manifestations in 257 cases in Denmark.

- British Journal of Cancer. 28. 552–561 (1973)
58. Yap HY, Tashima CK, Blumenschein GR, Eckles NE: Male breast cancer. A natural history study. *Cancer*. 44. 748–754 (1979)
59. Giordano SH, Buzdar AU, Hortobagyi GN: Breast Cancer in Men. *Annals of Internal Medicine*. 137. 678–687 (2002)
60. Giordano SH: Breast cancer in men. *New England Journal of Medicine*. 378. 2311–2320 (2018)
61. Appelbaum AH, Evans GFF, Levy KR, Amir Khan RH, Schumpert TD: Mammographic Appearances of Male Breast Disease. *RadioGraphics*. 19. 559–568 (1999)
62. Agrawal A, Ayantunde AA, Rampaul R, Robertson JFR: Male breast cancer: A review of clinical management. *Breast Cancer Research and Treatment*. 103. 11–21 (2007)
63. Muñoz Carrasco R, Álvarez Benito M, Muñoz Gomariz E, Raya Povedano JL, Martínez Paredes M: Mammography and ultrasound in the evaluation of male breast disease. *European Radiology*. 20. 2797–2805 (2010)
64. Evans GFF, Anthony T, Appelbaum AH, Schumpert TD, Levy KR, Amir Khan RH, Cambell TJ, Lopez J, Turnage RH: The diagnostic accuracy of mammography in the evaluation of male breast disease. *The American Journal of Surgery*. 181. 96–100 (2001)
65. Mainiero MB, Lourenco AP, Barke LD, Argus AD, Bailey L, Carkaci S, D’Orsi C, Green ED, Holley SO, Jokich PM, Lee S-J, Mahoney MC, Moy L, Slanetz PJ, Trikha S, Yepes MM, Newell MS: ACR Appropriateness Criteria Evaluation of the Symptomatic Male Breast. *Journal of the American College of Radiology*. 12. 678–682 (2015)
66. Mathew J, Perkins GH, Stephens T, Middleton LP, Yang W-T: Primary Breast Cancer in Men: Clinical, Imaging, and Pathologic Findings in 57 Patients. *American Journal of Roentgenology*. 191. 1631–1639 (2008)
67. Nothacker M, Duda V, Hahn M, Warm M, Degenhardt F, Madjar H, Weinbrenner S, Albert U-S: 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)
68. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft DK, AWMF): S3-Leitlinie Früherkennung, Diagnose, Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms. AWMF Registernummer: 032-045OL (2019)
69. Cardoso F, Bartlett JMS, Slaets L, van Deurzen CHM, van Leeuwen-Stok E, Porter P, Linderholm B, Hedenfalk I, Schröder C, Martens J, Bayani J, van Asperen C, Murray M, Hudis C, Middleton L, Vermeij J, Punie K, Fraser J, Nowaczyk M, Rubio IT, Aebi S, Kelly C, Ruddy KJ, Winer E, Nilsson C, Lago LD, Korde L, Benstead K, Bogler O, Goulioti T, Peric A, Litière S, Aalders KC, Poncet C, Tryfonidis K, Giordano SH: Characterization of male breast cancer: results of the EORTC 10085/TBCRC/BIG/NABCG International Male Breast Cancer Program. *Annals of Oncology*. 29. 405–417 (2018)
70. Meijer-van Gelder ME, Look MP, Bolt-de Vries J, Peters HA, Klijn JGM, Foekens JA: Clinical relevance of biologic factors in male breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*. 68. 249–260 (2001)
71. Sarmiento S, McColl M, Musavi L, Gani F, Canner JK, Jacobs L, Fu F, Siotos C, Habibi

- M: Male breast cancer: a closer look at patient and tumor characteristics and factors that affect survival using the National Cancer Database. *Breast Cancer Research and Treatment*. 180. 471–479 (2020)
72. Bloom KJ, Govil H, Gattuso P, Reddy V, Francescatti D: Status of HER-2 in male and female breast carcinoma. *The American Journal of Surgery*. 182. 389–392 (2001)
73. Eggemann H, Altmann U, Costa S-D, Ignatov A: Survival benefit of tamoxifen and aromatase inhibitor in male and female breast cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 144. 337–341 (2018)
74. Anderson WF, Jatoi I, Tse J, Rosenberg PS: Male breast cancer: A population-based comparison with female breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 28. 232–239 (2010)
75. Masci G, Caruso M, Caruso F, Salvini P, Carnaghi C, Giordano L, Misericocchi V, Losurdo A, Zuradelli M, Torrisi R, Di Tommaso L, Tinterri C, Testori A, Garcia-Etienne CA, Gatzemeier W, Santoro A: Clinicopathological and Immunohistochemical Characteristics in Male Breast Cancer: A Retrospective Case Series. *The Oncologist*. 20. 586–592 (2015)
76. Digenis AG, Ross CB, Morrison JG, Holcomb GW, Reynolds VH: Carcinoma of the male breast: a review of 41 cases. *Southern medical journal*. 83. 1162–1167 (1990)
77. Fogh S, Kachnic LA, Goldberg SI, Taghian AG, Powell SN, Hirsch AE: Localized Therapy for Male Breast Cancer: Functional Advantages With Comparable Outcomes Using Breast Conservation. *Clinical Breast Cancer*. 13. 344–349 (2013)
78. Leone JP, Leone J, Zwenger AO, Iturbe J, Leone BA, Vallejo CT: Locoregional treatment and overall survival of men with T1a,b,cN0M0 breast cancer: A population-based study. *European Journal of Cancer*. 71. 7–14 (2017)
79. Flynn LW, Park J, Patil SM, Cody III HS, Port ER: Sentinel Lymph Node Biopsy Is Successful and Accurate in Male Breast Carcinoma. *Journal of the American College of Surgeons*. 206. 616–621 (2008)
80. Lyman GH, Giuliano AE, Somerfield MR, Benson AB, Bodurka DC, Burstein HJ, Cochran AJ, Cody HS, Edge SB, Galper S, Hayman JA, Kim TY, Perkins CL, Podoloff DA, Sivasubramaniam VH, Turner RR, Wahl R, Weaver DL, Wolff AC, Winer EP: American Society of Clinical Oncology guideline recommendations for sentinel lymph node biopsy in early-stage breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 23. 7703–7720 (2005)
81. WHO: World health organization model list of essential medicines. *Mental and Holistic Health: Some International Perspectives*. 119–134 (2019)
82. Jordan VC: Tamoxifen: A most unlikely pioneering medicine. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2. 205–213 (2003)
83. Osborne CK: Tamoxifen in the Treatment of Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*. 339. 1609–1618 (1998)
84. Eggemann H, Ignatov A, Smith BJ, Altmann U, von Minckwitz G, Röhl FW, Jahn M, Costa S-D: Adjuvant therapy with tamoxifen compared to aromatase inhibitors for 257 male breast cancer patients. *Breast Cancer Research and Treatment*. 137. 465–470 (2013)
85. Lanitis S, Rice AJ, Vaughan A, Cathcart P, Filippakis G, Mufti R AI, Hadjiminias DJ: Diagnosis and Management of Male Breast Cancer. *World Journal of Surgery*. 32. 2471–2476 (2008)

86. Burstein HJ, Griggs JJ, Prestrud AA, Temin S: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update on Adjuvant Endocrine Therapy for Women With Hormone Receptor–Positive Breast Cancer. *Journal of Oncology Practice*. 6. 243–246 (2010)
87. Cutuli B, Lacroze M, Dilhuydy JM, Veiten M, De Lafontan B, Marchal C, Resbeut M, Graic Y, Campana F, Moncho-Bernier V, De Gislain C, Tortochaux J, Cuillere JC, Reme-Saumon M, N’Guyen TD, Lesaunier F, Le Simple T, Gamelin E, Hery M, Berlie J: Male breast cancer: Results of the treatments and prognostic factors in 397 cases. *European Journal of Cancer*. 31. 1960–1964 (1995)
88. Guinee VF, Shallenberger RC, Olsson H, Moller T, van den Blink JW, Peter Z, Durand M, Dische S, Cleton FJ, Zewuster R, Cui MF, Lane W, Richter R: The prognosis of breast cancer in males a report of 335 cases. *Cancer*. 71. 154–161 (1993)
89. Greif JM, Pezzi CM, Klimberg VS, Bailey L, Zuraek M: Gender Differences in Breast Cancer: Analysis of 13,000 Breast Cancers in Men from the National Cancer Data Base. *Annals of Surgical Oncology*. 19. 3199–3204 (2012)
90. Hortobagyi G, Connolly J, D’Orsi C, Edge S, Mittendorf E, Rugo H, Solin L, Weaver D, Winchester D, Giuliano A: *AJCC Cancer Staging Manual, Eighth Edition*, Breast. pp. 589–628 2017.
91. Miao H, Verkooijen HM, Chia K-S, Bouchardy C, Pukkala E, Larønningen S, Mellekjær L, Czene K, Hartman M: Incidence and Outcome of Male Breast Cancer: An International Population-Based Study. *Journal of Clinical Oncology*. 29. 4381–4386 (2011)
92. Auvinen A, Curtis RE, Ron E: Risk of Subsequent Cancer Following Breast Cancer in Men. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 94. 1330–1332 (2002)
93. Hemminki K, Scélo G, Boffetta P, Mellekjær L, Tracey E, Andersen A, Brewster DH, Pukkala E, McBride M, Kliwer E V, Chia K-S, Pompe-Kirn V, Martos C, Jonasson JG, Li X, Brennan P: Second primary malignancies in patients with male breast cancer. *British Journal of Cancer*. 92. 1288–1292 (2005)
94. Jensen E V, Jacobson H: Basic guides to the mechanism of estrogen action. *Recent Progr Hormone Res*. 18. 387–414 (1962)
95. Kuiper GG, Enmark E, Peltö-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA: Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 93. 5925–5930 (1996)
96. Carroll JS, Brown M: Estrogen Receptor Target Gene: An Evolving Concept. *Molecular Endocrinology*. 20. 1707–1714 (2006)
97. Falkenstein E, Tillmann H-C, Christ M, Feuring M, Wehling M: Multiple Actions of Steroid Hormones—A Focus on Rapid, Nongenomic Effects. *Pharmacological Reviews*. 52. 513 LP – 556 (2000)
98. Carmeci C, Thompson DA, Ring HZ, Francke U, Weigel RJ: Identification of a Gene (GPR30) with Homology to the G-Protein-Coupled Receptor Superfamily Associated with Estrogen Receptor Expression in Breast Cancer. *Genomics*. 45. 607–617 (1997)
99. O’Dowd BF, Nguyen T, Marchese A, Cheng R, Lynch KR, Heng HHQ, Kolakowski LF, George SR: Discovery of Three Novel G-Protein-Coupled Receptor Genes. *Genomics*. 47. 310–313 (1998)

100. Owman C, Blay P, Nilsson C, Lolait SJ: Cloning of human cDNA encoding a novel heptahelix receptor expressed in Burkitt's lymphoma and widely distributed in brain and peripheral tissues. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 228. 285–292 (1996)
101. Ji TH, Grossmann M, Ji I: G Protein-coupled Receptors: I. DIVERSITY OF RECEPTOR-LIGAND INTERACTIONS *. *Journal of Biological Chemistry*. 273. 17299–17302 (1998)
102. Revankar CM, Cimino DF, Sklar LA, Arterburn JB, Prossnitz ER: A Transmembrane Intracellular Estrogen Receptor Mediates Rapid Cell Signaling. *Science*. 307. 1625 LP – 1630 (2005)
103. Alexander SPH, Benson HE, Faccenda E, Pawson AJ, Sharman JL, Spedding M, Peters JA, Harmar AJ, Collaborators C: The Concise Guide to PHARMACOLOGY 2013/14: G Protein-Coupled Receptors. *British Journal of Pharmacology*. 170. 1459–1581 (2013)
104. Filardo EJ: Epidermal growth factor receptor (EGFR) transactivation by estrogen via the G-protein-coupled receptor, GPR30: a novel signaling pathway with potential significance for breast cancer. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 80. 231–238 (2002)
105. Prossnitz ER, Arterburn JB: International Union of Basic and Clinical Pharmacology. XCVII. G Protein-Coupled Estrogen Receptor and Its Pharmacologic Modulators. *Pharmacological Reviews*. 67. 505 LP – 540 (2015)
106. Sakamoto H, Matsuda K, Hosokawa K, Nishi M, Morris JF, Prossnitz ER, Kawata M: Expression of G Protein-Coupled Receptor-30, a G Protein-Coupled Membrane Estrogen Receptor, in Oxytocin Neurons of the Rat Paraventricular and Supraoptic Nuclei. *Endocrinology*. 148. 5842–5850 (2007)
107. Matsuda K, Sakamoto H, Mori H, Hosokawa K, Kawamura A, Itose M, Nishi M, Prossnitz ER, Kawata M: Expression and intracellular distribution of the G protein-coupled receptor 30 in rat hippocampal formation. *Neuroscience Letters*. 441. 94–99 (2008)
108. Madeo A, Maggiolini M: Nuclear Alternate Estrogen Receptor GPR30 Mediates 17 β -Estradiol-Induced Gene Expression and Migration in Breast Cancer-Associated Fibroblasts. *Cancer Research*. 70. 6036–6046 (2010)
109. Prossnitz ER, Arterburn JB, Smith HO, Oprea TI, Sklar LA, Hathaway HJ: Estrogen Signaling through the Transmembrane G Protein-Coupled Receptor GPR30. *Annual Review of Physiology*. 70. 165–190 (2008)
110. Pinton P, Giorgi C, Siviero R, Zecchini E, Rizzuto R: Calcium and apoptosis: ER-mitochondria Ca²⁺ transfer in the control of apoptosis. *Oncogene*. 27. 6407–6418 (2008)
111. Vara JÁF, Casado E, de Castro J, Cejas P, Belda-Iniesta C, González-Barón M: PI3K/Akt signalling pathway and cancer. *Cancer Treatment Reviews*. 30. 193–204 (2004)
112. Filardo EJ, Quinn JA, Bland KI, Frackelton Jr. AR: Estrogen-Induced Activation of Erk-1 and Erk-2 Requires the G Protein-Coupled Receptor Homolog, GPR30, and Occurs via Trans-Activation of the Epidermal Growth Factor Receptor through Release of HB-EGF. *Molecular Endocrinology*. 14. 1649–1660 (2000)
113. Filardo EJ, Quinn JA, Frackelton Jr. AR, Bland KI: Estrogen Action Via the G Protein-Coupled Receptor, GPR30: Stimulation of Adenylyl Cyclase and cAMP-Mediated Attenuation of the Epidermal Growth Factor Receptor-to-MAPK Signaling Axis. *Molecular Endocrinology*.

16. 70–84 (2002)

114. Meloche S, Pouyssegur J: The ERK1/2 mitogen-activated protein kinase pathway as a master regulator of the G1- to S-phase transition. *Oncogene*. 26. 3227–3239 (2007)

115. De Francesco EM, Pellegrino M, Santolla MF, Lappano R, Ricchio E, Abonante S, Maggiolini M: GPER Mediates Activation of HIF1 α /VEGF Signaling by Estrogens. *Cancer Research*. 74. 4053–4064 (2014)

116. Pandey DP, Lappano R, Albanito L, Madeo A, Maggiolini M, Picard D: Estrogenic GPR30 signalling induces proliferation and migration of breast cancer cells through CTGF. *The EMBO Journal*. 28. 523–532 (2009)

117. Marjon NA, Hu C, Hathaway HJ, Prossnitz ER: G Protein–Coupled Estrogen Receptor Regulates Mammary Tumorigenesis and Metastasis. *Molecular Cancer Research*. 12. 1644–1654 (2014)

118. Wei W, Chen Z-J, Zhang K-S, Yang X-L, Wu Y-M, Chen X-H, Huang H-B, Liu H-L, Cai S-H, Du J, Wang H-S: The activation of G protein-coupled receptor 30 (GPR30) inhibits proliferation of estrogen receptor-negative breast cancer cells in vitro and in vivo. *Cell Death & Disease*. 5. e1428–e1428 (2014)

119. Ariazi EA, Brailoiu E, Yerrum S, Shupp HA, Slifker MJ, Cunliffe HE, Black MA, Donato AL, Arterburn JB, Oprea TI, Prossnitz ER, Dun NJ, Jordan VC: The G Protein–Coupled Receptor GPR30 Inhibits Proliferation of Estrogen Receptor–Positive Breast Cancer Cells. *Cancer Research*. 70. 1184–1194 (2010)

120. Weißenborn C, Ignatov T, Ochel H-J, Costa SD, Zenclussen AC, Ignatova Z, Ignatov A: GPER functions as a tumor suppressor in triple-negative breast cancer cells. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 140. 713–723 (2014)

121. Vo D-KH, Hartig R, Weinert S, Haybaeck J, Nass N: G-Protein-Coupled Estrogen Receptor (GPER)-Specific Agonist G1 Induces ER Stress Leading to Cell Death in MCF-7 Cells. *Biomolecules*. 9. 503 (2019)

122. Teng J, Wang Z-Y, Prossnitz ER, Bjorling DE: The G Protein-Coupled Receptor GPR30 Inhibits Human Urothelial Cell Proliferation. *Endocrinology*. 149. 4024–4034 (2008)

123. Ignatov T, Modl S, Thulig M, Weißenborn C, Treeck O, Ortmann O, Zenclussen AC, Costa SD, Kalinski T, Ignatov A: GPER-1 acts as a tumor suppressor in ovarian cancer. *Journal of Ovarian Research*. 6. 51 (2013)

124. Wang C, Lv X, He C, Hua G, Tsai M-Y, Davis JS: The G-protein-coupled estrogen receptor agonist G-1 suppresses proliferation of ovarian cancer cells by blocking tubulin polymerization. *Cell Death & Disease*. 4. e869–e869 (2013)

125. Liu Q, Li J, Zheng X, Jin F, Dong H: Expression of CD133, PAX2, ESA, and GPR30 in invasive ductal breast carcinomas. *Chinese Medical Journal*. 122. 2763–2769 (2009)

126. Filardo EJ, Graeber CT, Quinn JA, Resnick MB, Giri D, DeLellis RA, Steinhoff MM, Sabo E: Distribution of GPR30, a Seven Membrane–Spanning Estrogen Receptor, in Primary Breast Cancer and its Association with Clinicopathologic Determinants of Tumor Progression. *Clinical Cancer Research*. 12. 6359 LP – 6366 (2006)

127. Sjöström M, Hartman L, Grabau D, Fornander T, Malmström P, Nordenskjöld B, Sgroi DC, Skoog L, Stål O, Leeb-Lundberg LMF, Fernö M: Lack of G protein-coupled estrogen

- receptor (GPER) in the plasma membrane is associated with excellent long-term prognosis in breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*. 145. 61–71 (2014)
128. Ignatov T, Claus M, Nass N, Haybaeck J, Seifert B, Kalinski T, Ortmann O, Ignatov A: G-protein-coupled estrogen receptor GPER-1 expression in hormone receptor-positive breast cancer is associated with poor benefit of tamoxifen. *Breast Cancer Research and Treatment*. 174. 121–127 (2019)
129. Mo Z, Liu M, Yang F, Luo H, Li Z, Tu G, Yang G: GPR30 as an initiator of tamoxifen resistance in hormone-dependent breast cancer. *Breast Cancer Research*. 15. R114 (2013)
130. Luo J, Liu D: Does GPER Really Function as a G Protein-Coupled Estrogen Receptor in vivo? *Frontiers in Endocrinology*. 11. 1–13 (2020)
131. Wang Z-Y, Zhang X-T, Shen P, Loggie BW, Chang Y-C, Deuel TF: Identification, cloning, and expression of human estrogen receptor- α 36, a novel variant of human estrogen receptor- α 66. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 336. 1023–1027 (2005)
132. Wang Z-Y, Yin L: Estrogen receptor alpha-36 (ER- α 36): A new player in human breast cancer. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 418. 193–206 (2015)
133. Kang L, Zhang X, Xie Y, Tu Y, Wang D, Liu Z, Wang Z-Y: Involvement of Estrogen Receptor Variant ER- α 36, Not GPR30, in Nongenomic Estrogen Signaling. *Molecular Endocrinology*. 24. 709–721 (2010)
134. Otto C, Fuchs I, Kauselmann G, Kern H, Zevnik B, Andreasen P, Schwarz G, Altmann H, Klewer M, Schoor M, Vonk R, Fritzemeier K-H: GPR30 Does Not Mediate Estrogenic Responses in Reproductive Organs in Mice. *Biology of Reproduction*. 80. 34–41 (2009)
135. Kuo W-H, Chang L-Y, Liu DL-Y, Hwa H-L, Lin J-J, Lee P-H, Chen C-N, Lien H-C, Yuan R-H, Shun C-T, Chang K-J, Hsieh F-J: The Interactions Between GPR30 and the Major Biomarkers in Infiltrating Ductal Carcinoma of the Breast in an Asian Population. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 46. 135–145 (2007)
136. Kolkova Z, Casslén V, Henic E, Ahmadi S, Ehinger A, Jirström K, Casslén B: The G protein-coupled estrogen receptor 1 (GPER/GPR30) does not predict survival in patients with ovarian cancer. *Journal of Ovarian Research*. 5. 9 (2012)
137. Eggemann H, Brucker C, Schrauder M, Thill M, Flock F, Reinisch M, Costa S-D, Ignatov A: Survival benefit of tamoxifen in male breast cancer: prospective cohort analysis. *British Journal of Cancer*. 123. 33–37 (2020)
138. Remmele H E WS: Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue. *Pathologie*. 8. 138–140 (1987)
139. Ignatov A, Bischoff J, Ignatov T, Schwarzenau C, Krebs T, Kuester D, Costa SD, Roessner A, Semczuk A, Schneider-Stock R: APC promoter hypermethylation is an early event in endometrial tumorigenesis. *Cancer Science*. 101. 321–327 (2010)
140. Ignatov T, Claus M, Nass N, Haybaeck J, Seifert B, Kalinski T, Ortmann O, Ignatov A: G-protein-coupled estrogen receptor GPER-1 expression in hormone receptor-positive breast cancer is associated with poor benefit of tamoxifen. *Breast Cancer Research and Treatment*. 174. 121–127 (2019)

141. Ignatov A, Ignatov T, Weienborn C, Eggemann H, Bischoff J, Semczuk A, Roessner A, Costa SD, Kalinski T: G-protein-coupled estrogen receptor GPR30 and tamoxifen resistance in breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*. 128. 457–466 (2011)
142. Altman DG, Lausen B, Sauerbrei W, Schumacher M: Dangers of Using “Optimal” Cutpoints in the Evaluation of Prognostic Factors. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 86. 829–835 (1994)
143. Ignatov T, Treeck O, Kalinski T, Ortmann O, Ignatov A: GPER-1 expression is associated with a decreased response rate to primary tamoxifen therapy of breast cancer patients. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 301. 565–571 (2020)
144. Friese K, Kost B, Vattai A, Marmé F, Kuhn C, Mahner S, Dannecker C, Jeschke U, Heublein S: The G protein-coupled estrogen receptor (GPER/GPR30) may serve as a prognostic marker in early-stage cervical cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 144. 13–19 (2018)
145. Schüler-Toprak S, Skrzypczak M, Ignatov T, Ignatov A, Ortmann O, Treeck O: G protein-coupled estrogen receptor 1 (GPER-1) and agonist G-1 inhibit growth of ovarian cancer cells by activation of anti-tumoral transcriptome responses: impact of GPER-1 mRNA on survival. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 146. 3175–3188 (2020)
146. Mayo Clinic Laboratories: Estradiol (E2) Serum. Available from: <https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/overview/81816> [last accessed May 15, 2023]
147. Steiman J, Peralta EA, Louis S, Kamel O: Biology of the estrogen receptor, GPR30, in triple negative breast cancer. *The American Journal of Surgery*. 206. 698–703 (2013)
148. Robert Koch-Institut (Hrsg): Daten und Fakten: Ergebnisse der Studie »Gesundheit in Deutschland aktuell 2010«. *Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes*. 116–118 (2012)
149. Sharma G, Prossnitz ER: Targeting the G protein-coupled estrogen receptor (GPER) in obesity and diabetes. *Endocrine and Metabolic Science*. 2. 100080 (2021)
150. Mårtensson UEA, Salehi SA, Windahl S, Gomez MF, Swärd K, Daszkiewicz-Nilsson J, Wendt A, Andersson N, Hellstrand P, Grände P-O, Owman C, Rosen CJ, Adamo ML, Lundquist I, Rorsman P, Nilsson B-O, Ohlsson C, Olde B, Leeb-Lundberg LMF: Deletion of the G Protein-Coupled Receptor 30 Impairs Glucose Tolerance, Reduces Bone Growth, Increases Blood Pressure, and Eliminates Estradiol-Stimulated Insulin Release in Female Mice. *Endocrinology*. 150. 687–698 (2009)
151. Carmichael AR: Obesity and prognosis of breast cancer. *Obesity Reviews*. 7. 333–340 (2006)
152. Humphries MP, Jordan VC, Speirs V: Obesity and male breast cancer: Provocative parallels? *BMC Medicine*. 13. 1–9 (2015)
153. Lennon H, Sperrin M, Badrick E, Renehan AG: The Obesity Paradox in Cancer: a Review. *Current Oncology Reports*. 18. 56 (2016)
154. Lean MEJ, Han TS, Morrison CE: Waist circumference as a measure for indicating need for weight management. *BMJ*. 311. 158 LP – 161 (1995)
155. Rayson D, Erlichman C, Suman VJ, Roche PC, Wold LE, Ingle JN, Donohue JH: Molecular markers in male breast carcinoma. *Cancer*. 83. 1947–1955 (1998)

156. Hefti MM, Hu R, Knoblauch NW, Collins LC, Haibe-Kains B, Tamimi RM, Beck AH: Estrogen receptor negative/progesterone receptor positive breast cancer is not a reproducible subtype. *Breast Cancer Research*. 15. R68 (2013)
157. Cserni G, Francz M, Kálmán E, Kelemen G, Komjáthy DC, Kovács I, Kulka J, Sarkadi L, Udvarhelyi N, Vass L, Vörös A: Estrogen Receptor Negative and Progesterone Receptor Positive Breast Carcinomas—How Frequent are they? *Pathology & Oncology Research*. 17. 663–668 (2011)
158. Rudlowski C, Friedrichs N, Faridi A, Füzési L, Moll R, Bastert G, Rath W, Büttner R: Her-2/neu Gene Amplification and Protein Expression in Primary Male Breast Cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*. 84. 215–223 (2004)
159. Doebar SC, Slaets L, Cardoso F, Giordano SH, Bartlett JMS, Tryfonidis K, Dijkstra NH, Schröder CP, van Asperen CJ, Linderholm B, Benstead K, Dinjens WNM, van Marion R, van Diest PJ, Martens JWM, van Deurzen CHM: Male breast cancer precursor lesions: analysis of the EORTC 10085/TBCRC/BIG/NABCG International Male Breast Cancer Program. *Modern Pathology*. 30. 509–518 (2017)
160. Tu G, Hu D, Yang G, Yu T: The correlation between GPR30 and clinicopathologic variables in breast carcinomas. *Technology in Cancer Research and Treatment*. 8. 231–234 (2009)
161. Ruddy KJ, Winer EP: Male breast cancer: risk factors, biology, diagnosis, treatment, and survivorship. *Annals of oncology*. 24. 1434–1443 (2013)
162. Litière S, Werutsky G, Fentiman IS, Rutgers E, Christiaens M-R, Van Limbergen E, Baaijens MHA, Bogaerts J, Bartelink H: Breast conserving therapy versus mastectomy for stage I–II breast cancer: 20 year follow-up of the EORTC 10801 phase 3 randomised trial. *The Lancet Oncology*. 13. 412–419 (2012)
163. Eggemann H, Ignatov A, Stabenow R, von Minckwitz G, Röhl FW, Hass P, Costa S-D: Male Breast Cancer: 20-Year Survival Data for Post-Mastectomy Radiotherapy. *Breast Care*. 8. 270–275 (2013)
164. Rago V, Romeo F, Giordano F, Maggolini M, Carpino A: Identification of the estrogen receptor GPER in neoplastic and non-neoplastic human testes. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 9. 135 (2011)
165. Jala VR, Radde BN, Haribabu B, Klinge CM: Enhanced expression of G-protein coupled estrogen receptor (GPER/GPR30) in lung cancer. *BMC Cancer*. 12. 624 (2012)
166. Vaclova T, Maguire S, Pugh M, Barry P, Orr N: Abstract 816: Molecular and genomic characterization of a newly established male breast cancer cell line. *Cancer Research*. 77. 816 (2017)

Veröffentlichung

Maiwald J-H, Sprung S, Czapiewski P, Lessel W, Scherping A, Schomburg D, Plaumann M, Tomasik B, Behre G, Haybaeck J, Ignatov A, Eggemann H, Nass N: The impact of G protein-coupled oestrogen receptor 1 on male breast cancer: a retrospective analysis. *Contemporary Oncology/Współczesna Onkologia*. 25. 204–212 (2021)
doi: 10.5114/wo.2021.110010

Introduction: The G protein-coupled oestrogen receptor 1 (GPER-1) is a potential prognostic marker in breast cancer. However, its role in male breast cancer (MBC) is still unknown. This study evaluates the expression of GPER-1 in MBC samples and correlates these data with clinical and pathological parameters including patients' survival.

Material and methods: For this retrospective analysis of a prospectively maintained cohort of patients with MBC, we examined 161 specimens for GPER-1 expression using immuno-histochemistry. An immunoreactive score (IRS) was calculated based on staining intensity and the percentage of positive tumour cells. Then, we correlated GPER-1 IRS with clinical and pathological parameters, and overall and relapse-free survival.

Results: About 40% of MBC samples were positive for GPER-1 expression (IRS \geq 4). There was no significant correlation with clinicopathological parameters, such as hormone receptor status or grading. However, a statistical trend was observed for tumour size (\geq 2 cm, $p = 0.093$). Kaplan-Meier survival analysis revealed no significant correlation with relapse-free survival. However, there was a significant correlation with overall survival, but when we adjusted the log-rank p-value to compensate for the cut-off point optimization method, it rose above 0.1. Additionally, GPER-1-positive patients were older at diagnosis. When adjusted for age by multivariable Cox regression analysis, the significance of GPER-1 status for survival was further reduced.

Conclusions: We found no significant prognostic value of GPER-1 in this MBC cohort as anticipated from studies on female BC. Future studies with higher sample size are needed to further verify a potential sex-specific role of GPER-1.

Danksagungen

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:

Die Rolle von GPER-1 beim Mammakarzinom des Mannes

an dem Institut für Pathologie und der Universitätsfrauenklinik mit der Unterstützung von PD Norbert Naß und Professor Haybäck 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.

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

Magdeburg, den 21.10.2023

Jan Hendrik Maiwald

Lebenslauf

Der Lebenslauf ist in der Version aus Datenschutzgründen nicht enthalten.

6 Anhang

6.1 Familienanamnese

Zur Beschreibung der Ergebnisse siehe Seite 28.

Tabelle 36: Zusammenhang zwischen Familienanamnese und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Exakten Tests nach Fisher

Brustkrebs bei Angehörigen 1. Grades	Alle		GPER-1 positiv		GPER-1 negativ		<i>p</i>
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
Ja	13	9,6	8	15,1	5	94,0	
Nein	123	88,2	45	84,9	78	6,0	
Gesamt	136		53		83		0,132
Fehlend	25		12		13		

Tabelle 37: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten bei positiver Familienanamnese

Brustkrebs bei Angehörigen 1. Grades	Gesamtüberleben [Wochen]				<i>p</i>	5-YSR [%]
	<i>Mittel</i>	<i>Std.Fehler</i>	<i>95 %-CI</i>			
Ja	277,2	16,6	244,7 - 309,7		0,450	90,0
Nein	280,3	7,6	265,4 - 295,3			79,0

Tabelle 38: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten bei positiver Familienanamnese

Brustkrebs bei Angehörigen 1. Grades	Rezidivfreies Überleben [Wochen]				<i>p</i>	5-RFS [%]
	<i>Mittel</i>	<i>Std.Fehler</i>	<i>95 %-CI</i>			
Ja	258,5	22,9	213,5 - 303,4		0,948	80,0
Nein	263,4	7,4	248,7 - 277,8			75,0

Tabelle 39: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf die Familienanamnese

Cox-Regression	Gesamtüberleben			Rezidivfreies Überleben		
	<i>p</i>	<i>HR</i>	<i>95 %-CI</i>	<i>p</i>	<i>HR</i>	<i>95 %-CI</i>
Familienanamnese						
positiv vs. negativ	0,460	0,469	0,063 - 3,496	0,948	0,953	0,224 - 4,056

6.2 Hormonrezeptoren

Zur Beschreibung der Ergebnisse siehe Seiten 31 bis 32.

Tabelle 40: Zusammenhang zwischen den Hormonrezeptoren und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Exakten Tests nach Fisher

Östrogen-Rezeptor	Alle		GPER-1 positiv		GPER-1 negativ		p
	n	%	n	%	n	%	
Positiv	157	98,1	64	98,5	93	97,9	1,000
Negativ	3	1,9	1	1,5	2	2,1	
Gesamt	160		65		95		
Fehlend	1		0		1		
Progesteron-rezeptor	Alle		GPER-1 positiv		GPER-1 negativ		p
	n	%	n	%	n	%	
Positiv	153	95,0	62	95,4	91	94,8	1,000
Negativ	8	5,0	3	4,6	5	5,2	
Gesamt	161		65		96		
Fehlend	0		0		0		
HER2/neu	Alle		GPER-1 positiv		GPER-1 negativ		p
	n	%	n	%	n	%	
Positiv	21	13,1	10	15,4	11	11,6	0,486
Negativ	139	86,9	55	84,6	84	88,4	
Gesamt	160		65		95		
Fehlend	1		0		1		
Triple-positiv	Alle		GPER-1 positiv		GPER-1 negativ		p
	n	%	n	%	n	%	
Ja	15	9,4	7	10,8	8	8,5	0,784
Nein	144	90,6	58	89,2	86	91,5	
Gesamt	159		65		94		
Fehlend	2		0		2		

Tabelle 41: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach Hormonrezeptoren

Östrogenrezeptor	Gesamtüberleben [Wochen]				5-YSR [%]
	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	
Positiv	281,4	6,8	268,1 - 294,7	0,388	78,7
Negativ	185,6	69,8	48,8 - 322,5		66,7
Progesteronrezeptor	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	5-YSR [%]
	Positiv	282,7	6,7	269,6 - 295,8	0,176
Negativ	221,4	36,2	150,5 - 292,3		68,6

HER2/neu	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	5-YSR [%]
Positiv	281,4	16,1	249,9 - 312,9	0,901	83,2
Negativ	268,4	6,5	256,3 - 281,6		77,3
Triple-positiv	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	5-YSR [%]
Ja	289,3	19,1	251,8 - 326,7	0,663	83,1
Nein	267,0	6,3	256,6 - 281,3		78,4

Tabelle 42: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach Hormonrezeptoren

Östrogenrezeptor	Rezidivfreie Zeit [Wochen]				5-RFS [%]
	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	
Positiv	264,8	6,7	251,7 - 278,0	0,341	76,9
Negativ	210,6	42,8	126,6 - 294,5		50,0
Progesteronrezeptor	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	5-RFS [%]
Positiv	266,0	6,6	252,9 - 279,0	0,329	66,7
Negativ	210,0	42,2	127,3 - 292,6		76,8
HER2/neu	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	5-RFS [%]
Positiv	237,5	19,1	200,0 - 275,1	0,449	75,2
Negativ	266,9	6,9	253,3 - 280,5		76,7
Triple-positiv	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	5-RFS [%]
ja	258,5	18,1	222,9 - 294,0	0,672	86,7
nein	263,4	7,1	249,6 - 277,3		75,4

Tabelle 43: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf die Hormonrezeptoren

Cox-Regression Faktor	Gesamtüberleben			Rezidivfreies Überleben		
	p	HR	95 %-CI	p	HR	95 %-CI
ER ^{&}	0,402	0,425	0,057 - 3,144	0,359	0,392	0,053 - 2,896
PR ^{&}	0,188	0,445	0,133 - 1,486	0,339	0,494	0,117 - 2,093
HER2/neu ^{&}	0,901	0,934	0,321 - 2,717	0,452	1,454	0,548 - 3,859
Triple-positiv ^{&}	0,664	0,726	0,171 - 3,080	0,659	0,733	0,173 - 3,103

[&]positiv vs. negativ

6.3 Histopathologische Typen

Zur Beschreibung der Ergebnisse siehe Seiten 32 bis 33.

Tabelle 44: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach Hormonrezeptoren nach histopathologischen Typen; aufgrund einer 100 % Überlebensrate sind die mit (*) markierten Einträge nicht definiert

Histopathologie	Gesamtüberleben [Wochen]				5-YSR [%]
	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	
Invasiv NST	273,8	7,9	258,4 - 289,2	0,079 ^{&}	79,2
DCIS	(*)	(*)	(*)	0,552 ^{&}	100,0
Invasiv/DCIS	(*)	(*)	(*)	0,123 ^{&}	100,0
Invasiv papillär	(*)	(*)	(*)	0,573 ^{&}	100,0
Muzinös	(*)	(*)	(*)	0,380 ^{&}	100,0
andere	180,6	5,2	170,3 - 190,9	0,777 ^{&}	85,7
Gesamt				0,525 [%]	

[&]verglichen mit allen anderen histopathologischen Typen; [%]Vergleich aller histopathologischen Typen untereinander

Tabelle 45: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach histopathologischen Typen; aufgrund einer 100 % Überlebensrate sind die mit (*) markierten Einträge nicht definiert

	Rezidivfreie Zeit [Wochen]				5-RFS [%]
	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	
Invasiv NST	265,1	7,3	250,9 - 279,4	0,767 ^{&}	77,1
DCIS	(*)	(*)	(*)	0,604 ^{&}	100,0
Invasiv/DCIS	224,7	23,8	178,1 - 271,3	0,505 ^{&}	71,6
Invasiv papillär	227,1	0,0	227,1 - 227,1	0,324 ^{&}	0,0
Muzinös	(*)	(*)	(*)	0,370 ^{&}	100,0
andere	174,2	11,9	150,9 - 197,4	0,933 ^{&}	85,7
Gesamt	264,3	6,7	218,1 - 276,5	0,786 [%]	

[&]verglichen mit allen anderen histopathologischen Typen; [%]Vergleich aller histopathologischen Typen untereinander

Tabelle 46: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf das invasive Karzinom NST

Cox-Regression Faktor	Gesamtüberleben			Rezidivfreies Überleben		
	p	HR	95 %-CI	p	HR	95 %-CI
Invasiv NST vs. alle anderen histopathologischen Typen	0,114	5,006	0,679 - 36,925	0,768	0,863	0,325 - 2,290

6.4 Metastasen

Zur Beschreibung der Ergebnisse siehe Seite 39.

Tabelle 47: Zusammenhang zwischen M-Status und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Exakten Tests nach Fisher

M	Alle		GPER-1 positiv		GPER-1 negativ		p
	n	%	n	%	n	%	
M0	124	95,4	52	94,5	72	94,7	
M1	6	4,6	3	5,5	4	5,3	
Gesamt	130		55		76		1,000
Fehlend	31		10		20		

Tabelle 48: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach M-Status

M	Gesamtüberleben [Wochen]				5-YSR [%]
	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	
M0	288,2	6,9	274,8 - 301,7	0,186	81,7
M1	258,9	14,4	230,7 - 287,1		31,3

Tabelle 49: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach M-Status

M	Rezidivfreies Überleben [Wochen]				5-RFS [%]
	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	
M0	274,5	6,3	262,1 - 286,9	<0,001	80,8
M1	124,4	24,8	75,8 - 173,0		0,0

Tabelle 50: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf den M-Status

Cox-Regression Faktor	Gesamtüberleben			Rezidivfreies Überleben		
	p	HR	95 %-CI	p	HR	95 %-CI
M	0,198	2,246	0,654 - 7,711	<0,001	13,549	5,152 - 35,632

6.5 Grading

Zur Beschreibung der Ergebnisse siehe Seite 39.

Tabelle 51: Zusammenhang zwischen Grading und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests und des Spearman's Rho-Korrelationskoeffizienten

G	Alle		GPER-1 positiv		GPER-1 negativ		<i>p</i>	Spearman's	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%		<i>Rho</i>	<i>Sig.</i>
G1	15	10,1	4	6,8	11	12,2			
G2	88	59,0	36	61,0	52	57,8			
G3	46	30,9	19	32,2	27	30,0			
Gesamt	149		59		90		0,558	0,043	0,604
Fehlend	12		6		6				

Tabelle 52: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach Grading

G	Gesamtüberleben [Wochen]				<i>p</i>	5-YSR [%]
	<i>Mittel</i>	<i>Std.Fehler</i>	95 %-CI			
G1	253,3	21,1	212,0 - 294,6		0,587 ^{&}	64,2
G2	280,9	9,3	262,7 - 299,1		0,601 ^{&}	79,8
G3	263,9	11,2	241,9 - 285,8		0,822 ^{&}	78,4
Gesamt	279,4	7,0	265,6 - 293,1		0,812 [%]	

[&]verglichen mit allen anderen Grading-Stadien; [%]Vergleich aller Grading-Stadien untereinander

Tabelle 53: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach Grading

G	Rezidivfreies Überleben [Wochen]				<i>p</i>	5-RFS [%]
	<i>Mittel</i>	<i>Std.Fehler</i>	95 %-CI			
G1	232,8	24,7	184,3 - 281,3		0,190 ^{&}	55,1
G2	273,1	8,1	257,2 - 289,0		0,065 ^{&}	82,9
G3	251,4	12,7	226,4 - 276,4		0,243 ^{&}	69,0
Gesamt	263,1	6,9	249,6 - 276,6		0,145 [%]	

[&]verglichen mit allen anderen Grading-Stadien; [%]Vergleich aller Grading-Stadien untereinander

Tabelle 54: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf das Grading

Cox-Regression Faktor	Gesamtüberleben			Rezidivfreies Überleben		
	<i>p</i>	<i>HR</i>	95 %-CI	<i>p</i>	<i>HR</i>	95 %-CI
G1	0,588	1,395	0,418 - 4,653	0,199	2,012	0,692 - 5,846
G2	0,602	0,814	0,376 - 1,761	0,071	0,488	0,224 - 1,063
G3	0,822	1,097	0,489 - 2,462	0,248	1,583	0,727 - 3,446

6.6 Operationen

Zur Beschreibung der Ergebnisse siehe Seite 40.

Tabelle 55: Zusammenhang zwischen der durchgeführten Operation und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests

Operationen	Alle		GPER-1 positiv		GPER-1 negativ		p
	n	%	n	%	n	%	
Ablatio mam.	136	91,9	66	90,4	70	93,3	
Ablatio bds.	1	0,7	0	0	1	1,3	
Brusterhaltende Therapie	7	4,7	5	6,8	2	2,7	
Andere	3	2,0	1	1,4	2	2,7	
keine	1	0,7	1	1,4	0	0	
Gesamt	148		73		75		0,355
Fehlend	13		8		5		

Tabelle 56: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach Operationen; aufgrund einer 100 % Überlebensrate sind die mit (*) markierten Einträge nicht definiert

Operationen	Gesamtüberleben [Wochen]				5-YSR [%]
	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	
Ablatio mam.	281,4	7,3	267,1 - 295,7	0,932 ^{&}	78,9
Ablatio bds.	170,9	0,0	170,9 - 170,9	0,014 ^{&}	0,0
Brusterhaltende Therapie	267,1	3,6	260,0 - 274,3	0,878 ^{&}	100,0
andere	(*)	(*)	(*)	0,377 ^{&}	100,0
keine	(*)	(*)	(*)	0,780 ^{&}	100,0
Gesamt	282,1	6,9	268,6 - 295,5	0,158 [%]	83,2

[&]verglichen mit allen anderen Operationen; [%]Vergleich aller Operationen untereinander

Tabelle 57: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach Operationen

Operationen	Rezidivfreie Zeit [Wochen]				5-RFS [%]
	Mittel	Std.Fehler	95 %-CI	p	
Ablatio mam.	270,5	6,7	257,5 - 283,6	0,028^{&}	81,1
Ablatio bds.	85,7	0,0	85,7 - 85,7	<0,001^{&}	0,0
Brusterhaltende Therapie	234,3	17,9	199,5 - 269,4	0,484 ^{&}	37,5
andere	204,9	13,2	178,9 - 230,8	0,661 ^{&}	50,0
keine	85,7	0,0	85,7 - 85,7	<0,001^{&}	0,0
Gesamt	266,1	6,7	253,1 - 279,2	<0,001[%]	

[&]verglichen mit allen anderen Operationen; [%]Vergleich aller Operationen untereinander

Tabelle 58: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf Ablatio mammae

Cox-Regression Faktor	Gesamtüberleben			Rezidivfreies Überleben		
	<i>p</i>	<i>HR</i>	95 %-CI	<i>p</i>	<i>HR</i>	95 %-CI
Ablatio mam.	0,932	1,065	0,250 - 4,530	0,036	0,347	0,129 - 0,931
Ablatio bds.	0,040	8,355	1,097 - 63,620	0,006	18,666	2,296 - 151,745

6.7 Strahlentherapie

Zur Beschreibung der Ergebnisse siehe Seiten 43 bis 44.

Tabelle 59: Zusammenhang zwischen Strahlentherapie und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests

Strahlentherapie	Alle		GPER-1 positiv		GPER-1 negativ		<i>p</i>
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
Ja	73	50,7	34	59,6	39	44,8	
Nein	71	49,3	23	40,4	48	55,2	
Gesamt	144		57		87		0,091
Fehlend	17		8		9		

Tabelle 60: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach Strahlentherapie

Strahlentherapie	Gesamtüberleben [Wochen]				5-YSR [%]
	<i>Mittel</i>	<i>Std.Fehler</i>	95 %-CI	<i>p</i>	
ja	264,9	9,0	247,2 - 282,6	0,694	75,4
nein	279,2	10,4	258,8 - 299,5		79,2

Tabelle 61: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach Strahlentherapie

Strahlentherapie	Rezidivfreie Zeit [Wochen]				5-RFS [%]
	<i>Mittel</i>	<i>Std.Fehler</i>	95 %-CI	<i>p</i>	
ja	259,8	9,5	240,9 - 278,2	0,549	71,9
nein	259,6	10,0	240,2 - 279,3		79,8

Tabelle 62: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf die Strahlentherapie

Faktor Strahlentherapie	Gesamtüberleben			Rezidivfreies Überleben		
	<i>p</i>	<i>HR</i>	95 %-CI	<i>p</i>	<i>HR</i>	95 %-CI
ja vs. nein	0,695	1,167	0,539 - 2,529	0,550	1,273	0,577 - 2,807

6.8 Endokrine Therapie

Zur Beschreibung der Ergebnisse siehe Seite 44.

Tabelle 63: Zusammenhang zwischen endokriner Therapie und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests

Endokrine Therapie	Alle		GPER-1 positiv		GPER-1 negativ		<i>p</i>
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
Tamoxifen	125	97,7	50	94,3	74	100	
Aromatase-inhibitor	2	1,6	2	3,8	0	0	
Fulvestrant	1	0,8	1	1,9	0	0	
Gesamt	128		53		74		0,117
Keine	17		7		10		1,000
Fehlend	16		5		11		

Tabelle 64: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebensraten nach endokriner Therapie; keine endokrine Therapie vs. alle endokrinen Therapien

Endokrine Therapie	Gesamtüberleben [Wochen]				5-YSR [%]
	<i>Mittel</i>	<i>Std.Fehler</i>	95 %-CI	<i>p</i>	
jede	281,7	7,2	267,6 - 295,9		79,6
keine	278,9	14,8	249,9 - 307,8	0,771	77,1

Tabelle 65: Kaplan-Meier-Analyse der Rezidivraten nach endokriner Therapie; keine endokrine Therapie vs. alle endokrinen Therapien

Endokrine Therapie	Rezidivfreie Zeit [Wochen]				5-RFS [%]
	<i>Mittel</i>	<i>Std.Fehler</i>	95 %-CI	<i>p</i>	
jede	259,7	7,2	245,6 - 273,9		74,2
keine	284,3	17,0	251,1 - 317,5	0,288	93,3

Tabelle 66: Ergebnisse der univariablen Cox-Regression zur Vorhersage des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens in Bezug auf die endokrine Therapie

Cox-Regression	Gesamtüberleben			Rezidivfreies Überleben		
	<i>p</i>	<i>HR</i>	95 %-CI	<i>p</i>	<i>HR</i>	95 %-CI
jede vs. keine	0,772	0,807	0,190 - 3,434	0,310	0,355	0,048 - 2,620

6.9 Todesursache: MBC

Als Todesursache wurde bei elf Patienten explizit das Mammakarzinom angegeben (40,7 %). Bei fünf Patienten wurde eine Todesursache unabhängig vom MBC diagnostiziert (18,5 %), bei elf Patienten wurde als Todesursache „unbekannt“ vermerkt (40,7 %). Bei den GPER-1-Positiven ist der Brustkrebs bei zwei Männern die Todesursache gewesen (33,3 %), bei den GPER-1-Negativen in neun Fällen (42,9 %). Eine Todesursache unabhängig vom MBC wurde bei den GPER-1-Positiven in zwei Fällen vermerkt (33,3 %), bei den GPER-1-Negativen in drei Fällen (14,3 %).

Signifikante Unterschiede in der erwarteten Häufigkeitsverteilung konnten hier knapp nicht ermittelt werden ($p = 0,155$).

Tabelle 67: Zusammenhang zwischen am MBC verstorbenen Patienten und GPER-1-Expression; Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests

Verstorben am MBC	Alle		GPER-1 positiv		GPER-1 negativ		p
	n	%	n	%	n	%	
Ja	11	40,7	2	33,3	9	42,9	
Nein	5	18,5	2	33,3	3	14,3	
Unbekannt	11	40,7	2	33,3	9	42,9	
Gesamt	27		6		21		0,155

6.10 Protokoll der GPER-1 Immunhistochemie

Protokoll-Nr. 802 : GPR30 (06.02.2019)

Version: 1

Überprüft: Nei

aktiv: Ja

Prozedur: XT ultraView DAB v3 (v1.00.0000)

BenchMark XT IHC/ISH

Universitaet Magdeburg Institut fuer Pathologie, Leipziger Str. 44 D - 39120 Magdeburg

Schritt-Nr	Protokollschritt
1	***** EZ Prep Auswählen *****
2	***** Getimete Schritte Starten *****
3	***** Mischer Aus *****
4	Aufheizen des Objektträgers bis 75 °C, und für 4 Minuten inkubieren
5	EZPrep Vol. ausgleichen
6	Objektträger waschen
7	EZPrep Vol. ausgleichen
8	Objektträger waschen
9	EZPrep Vol. ausgleichen
10	Coverslip auftragen
11	Aufheizen des Objektträgers bis 76 °C, und für 4 Minuten inkubieren
12	Objektträger waschen
13	Deparaffinierung Vol. ausgleichen
14	Coverslip auftragen
15	Objektträger-Heizung ausschalten
16	***** Mischer An *****
17	Objektträger-Heizung ausschalten
18	***** SSC Wash Auswählen *****
19	Spülen mit Reaktionspuffer
20	Feineinstellung des Reaktionspuffervolumens
21	Coverslip auftragen
22	Spülen mit Reaktionspuffer
23	Feineinstellung des Reaktionspuffervolumens
24	Coverslip auftragen
25	***** Synchronisieren der Prozeduren
26	Aufheizen des Objektträgers bis 37 °C, und für 4 Minuten inkubieren
27	Spülen mit Reaktionspuffer
28	Feineinstellung des Reaktionspuffervolumens
29	1 Tropfen UV INHIBITOR auftragen, Coverslip auftragen, und für 4 Minuten inkubieren.
30	Spülen mit Reaktionspuffer
31	Feineinstellung des Reaktionspuffervolumens
32	1 Tropfen von [PROTEASE 1] (Enzym) auftragen, LCS auftragen u. für [12 Minuten] inkubieren.
33	Spülen mit Reaktionspuffer
34	Feineinstellung des Reaktionspuffervolumens
35	Coverslip auftragen
36	Aufheizen des Objektträgers bis 37 °C, und für 4 Minuten inkubieren
37	Spülen mit Reaktionspuffer
38	Feineinstellung des Reaktionspuffervolumens
39	Coverslip auftragen
40	***** Handauftrag (Primär Antikörper), und für [0 Stunden 32 Min] inkubieren *****
41	Spülen mit Reaktionspuffer
42	Feineinstellung des Reaktionspuffervolumens
43	Coverslip auftragen
44	Aufheizen des Objektträgers bis 37 °C, und für 4 Minuten inkubieren

* Ein Tropfen entspricht einer Reagenzienabgabe

Universitaet Magdeburg Institut fuer Pathologie, Leipziger Str. 44 D - 39120 Magdeburg
VSS v12.5.4 Build 20104.2

Gedruckt 25.01.2021 14:07:31

Seite 1 von 2

Protokoll-Nr. 802 : GPR30 (06.02.2019)**Version: 1****Überprüft: Nei****aktiv: Ja****Prozedur: XT ultraView DAB v3 (v1.00.0000)****BenchMark XT IHC/ISH****Universitaet Magdeburg Institut fuer Pathologie, Leipziger Str. 44 D - 39120 Magdeburg**

Schritt-Nr	Protokollschritt
45	Spülen mit Reaktionspuffer
46	Feineinstellung des Reaktionspuffervolumens
47	1 Tropfen UV HRP UNIV MULT auftragen, Coverslip auftragen, und für 8 Minuten inkubieren.
48	Spülen mit Reaktionspuffer
49	Feineinstellung des Reaktionspuffervolumens
50	Coverslip auftragen
51	Spülen mit Reaktionspuffer
52	Feineinstellung des Reaktionspuffervolumens
53	1 Tropfen UV DAB und einen Tropfen UV DAB H2O2 auftragen, LCS auftragen und für 8 Minuten inkubieren.
54	Spülen mit Reaktionspuffer
55	Feineinstellung des Reaktionspuffervolumens
56	1 Tropfen UV COPPER auftragen, Coverslip auftragen, und für 4 Minuten inkubieren.
57	Spülen mit Reaktionspuffer
58	Coverslip auftragen
59	Objektträger-Heizung ausschalten
60	***** Optionalen Waschvorgang Auswählen *****
61	***** SSC Wash Auswählen *****
62	***** Getimete Schritte Starten *****
63	Spülen mit Reaktionspuffer