

Aus dem Institut für Pathologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Molekulare Marker zur Prädiktion des Ansprechens
auf neoadjuvante Therapie beim Mammakarzinom**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor rerum medicinalium (Dr. rer. medic.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Judith Lea Lindner

aus Berlin

Datum der Promotion: 09.12.2016

Gewidmet meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	1
Abstract	2
Abkürzungsverzeichnis.....	3
1 Einführung.....	4
1.1 Neoadjuvante Chemotherapie beim Mammakarzinom	4
1.2 SPARC als potentieller Biomarker	5
1.3 Zielsetzung	6
2 Methodik.....	7
2.1 Patientinnenkollektive	7
2.1.1 Neoadjuvante Mammakarzinom-Studien.....	7
2.1.1.1 GeparTrio.....	7
2.1.1.2 GeparQuattro	7
2.1.1.3 GeparQuinto.....	8
2.1.1.4 GeparSixto	8
2.1.2 Adjuvante Pankreaskarzinom-Studie.....	8
2.1.2.1 CONKO-001	8
2.2 Methoden.....	9
2.2.1 Immunhistochemie	9
2.2.2 RNA Extraktion und quantitative RT-PCR	9
2.2.3 DNA Extraktion und Sequenzierung nach Sanger.....	10
2.2.4 Statistische Auswertung	10
3 Ergebnisse	11
3.1 Expression des Glykoproteins SPARC und Ansprechen auf neoadjuvante Chemotherapie im Mammakarzinom.....	11
3.2 Expression des Glykoproteins SPARC im mit Gemcitabine behandelten Pankreaskarzinom.....	12
3.3 HER2 und ESR1 RNA Expression und Ansprechen auf neoadjuvante Chemotherapie plus Trastuzumab im Mammakarzinom	13
3.4 PIK3CA Mutationen sind mit geringerem Ansprechen auf anti-HER2-Therapie im HER2-positiven Mammakarzinom assoziiert	14
4 Diskussion.....	15
5 Literatur	18
Eidesstattliche Erklärung	21
Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen.....	22
Lebenslauf.....	24
Publikationsliste.....	25
Buchbeitrag	28
Kongressbeiträge	28
Vortrag.....	28
Poster	28
Danksagung	29
Anlage: Drucke der ausgewählten Publikationen	30

Zusammenfassung

Die Evaluation von Biomarkern mit dem Ziel, die für den individuellen Patienten beste Therapieentscheidung zu treffen, stellt einen festen Bestandteil der pathologischen Diagnostik dar. Primäres Ziel dieser Arbeit war es, molekulare Biomarker zur Prädiktion des Ansprechens auf neoadjuvante Chemotherapie zu untersuchen. Dazu wurde das prädiktive Potenzial des Proteins SPARC (Secreted protein acidic and rich in cysteine) immunhistochemisch im neoadjuvant therapierten Mammakarzinom analysiert. Zusätzlich wurde SPARC auch im adjuvant mit Gemcitabin behandelten Pankreaskarzinom untersucht. Das Protein SPARC scheint in beiden Tumorentitäten als möglicher Marker eine Relevanz zu haben. Im Mammakarzinom konnte eine hohe SPARC Expression als unabhängiger prädiktiver Marker für ein Therapieansprechen, insbesondere in der triple-negativen Situation, identifiziert werden. Im Pankreaskarzinom zeigte sich ein negativer prognostischer Einfluss von SPARC. Da SPARC Albumin binden kann, wird dies besonders im Zusammenhang mit einer möglichen *nab*-Paclitaxel Therapie interessant, welche nachweislich in beiden Entitäten zu einem verbesserten Therapieansprechen führt. Als weiterer Ansatz wurden HER2-positive Mammatumoren untersucht. Hier wurde zum einen der Zusammenhang zwischen Ansprechen auf eine neoadjuvante Chemotherapie plus Trastuzumab im Mammakarzinom und der Expression von HER2 auf mRNA-Ebene mittels quantitativer Real-Time PCR (qRT-PCR) analysiert. Es konnte eine Korrelation zwischen HER2-mRNA Level und Ansprechen auf Trastuzumab innerhalb der Östrogenrezeptor-positiven Patientinnen festgestellt werden. Weiterhin wurde der PIK3CA-Genotyp als Prädiktor für das Ansprechen auf neoadjuvante Chemotherapie in Kombination mit einer anti-HER2-Therapie durch Sequenzierung untersucht, mit dem Ergebnis, dass Patientinnen mit mutierten Tumoren mit einer geringeren Wahrscheinlichkeit auf die Therapie ansprachen. Zusammengefasst konnten in dieser Arbeit Biomarker auf genomischer Ebene und auf verschiedenen Ebenen der Translation evaluiert und ihr prädiktiver Wert für das Therapieansprechen gezeigt werden. Die klinische Bedeutung unserer Ergebnisse muss in weiteren Studien belegt werden.

Abstract

The evaluation of biomarkers with the aim of providing the individual patients with the best possible therapy is an integral part of pathological diagnostics. The primary goal of this study was to examine biomarkers predictive for response to neoadjuvant chemotherapy. For this purpose, the predictive potential of the SPARC protein was analyzed by immunohistochemistry in patients with breast cancer who received an adjuvant chemotherapy and also in pancreatic cancer treated with adjuvant therapy with gemcitabine. SPARC appears to be of potential as a biomarker in both tumor entities. In breast cancer tumors, a high expression of SPARC was independently predictive for response to chemotherapy, especially in triple negative tumors. In pancreatic cancer, SPARC had a negative prognostic impact. As SPARC is able to bind albumin, this could be of special interest in respect to a therapy with *nab*-paclitaxel, which was proven to lead to a higher therapy response in breast, as well as in pancreatic cancer. In a further approach, HER2-positive breast cancer was investigated. We evaluated a connection between response to neoadjuvant therapy plus trastuzumab and HER2-RNA levels measured by qRT-PCR. A significant correlation could only be seen within the estrogen receptor-positive patients. Furthermore, the PIK3CA genotype was investigated via sequencing as a possible predictor for response to neoadjuvant chemotherapy in combination with anti-HER2 therapy. Patients with mutated tumors were less likely to respond to therapy. In summary, we were able to evaluate biomarkers on the genomic as well as translational level and show their predictive value for chemotherapy response. The clinical significance of our findings is to be evaluated in further studies.

Abkürzungsverzeichnis

DNA	Desoxyribonukleinsäure
EC	Epirubicin mit Cyclophosphamid
ESR1	estrogen receptor 1 (Östrogenrezeptor)
FFPE	Formalin-fixiert und in Paraffin eingebettet
G3	GeparTrio
G4	GeparQuattro
G5	GeparQuinto
G6	GeparSixto
H&E	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
HER2	human epidermal growth factor receptor 2
HR	Hormonrezeptor
IH	Immunhistochemie
IRS	Immunreaktiver Score
<i>nab</i>	nanoparticle albumin-bound
NX	Vinorelbin und Capecitabin
pCR	pathologische Komplettremission
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PI3K	Phosphoinositid-3-Kinase
PIK3CA	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase, catalytic subunit alpha
qRT-PCR	quantitative Real-Time Polymerase-Kettenreaktion
RNA	Ribonukleinsäure
SISH	Silber in situ Hybridisierung
SPARC	Secreted protein acidic and rich in cysteine
TAC	Docetaxel, Doxorubicin und Cyclophosphamid
TMA	Tissue microarray
TNBC	triple negative breast cancer

1 Einführung

1.1 Neoadjuvante Chemotherapie beim Mammakarzinom

Brustkrebs ist die am häufigsten diagnostizierte Krebsart bei Frauen und eine biologisch sehr heterogene Erkrankung. Eine Einteilung auf Grundlage von pathologischen Parametern in HR (Hormonrezeptor)-positiv oder -negativ, HER2 (human epidermal growth factor receptor 2) -positiv und triple-negativ (TNBC) bietet eine gute Grundlage zur Therapieentscheidung. Um die individuell beste Therapie für eine Patientin zu finden, reichen diese Marker allein oftmals nicht aus. Eine neoadjuvante systemische Chemotherapie ist die Therapieform der Wahl bei inoperablen und inflammatorischen Mammakarzinomen, wird aber auch optional bei primär operablen Mammakarzinomen eingesetzt, um eine möglichst vollständige Elimination der Tumorzellen oder aber zumindest eine Verkleinerung des Tumors zur verbesserten Operabilität zu erreichen. Hierbei ist die neoadjuvante Therapie hinsichtlich der Verbesserung der Prognose gleichwertig zur adjuvanten Therapie. Von Vorteil ist auch, dass nach erfolgter Therapie das Ansprechen des Tumors direkt untersucht werden kann. Als Surrogatmarker für ein längeres progressionsfreies und Gesamtüberleben nach neoadjuvanter Chemotherapie dient die Beurteilung der pathologischen Komplettremission (pCR) nach der Operation, allerdings nur für die Subtypen der triple-negativen, der HR-negativ/HER2-positiven und der Luminal-B/HER2-negativen Tumoren. Von einer pCR spricht man, wenn sich histologisch keine Tumorzellen in Brust- und Lymphknotengewebe nachweisen lassen. Dadurch bietet die neoadjuvante Therapie die Möglichkeit, eine Therapie individuell auf Grundlage des Interim-Ansprechens zu gestalten. Die neoadjuvante Therapie stellt auch eine interessante Plattform für die Erprobung neuer Therapieformen dar, da der klinische Endpunkt der pCR als Surrogat für den Therapieerfolg schnell erreicht ist, ohne dass lange follow-up Zeiten verstreichen müssen. Auch bietet die neoadjuvante Therapie die Möglichkeit, prädiktive Biomarker zu erproben und Resistenzmechanismen zu untersuchen.

Eine Charakterisierung des Tumors unter Abgrenzung des intrinsischen Subtyps kann im Labor auf unterschiedliche Weise erfolgen - klassisch mittels Immunhistochemie, durch Genexpressions- oder DNA-Analysen oder andere molekularpathologische Tests. Die meisten diagnostizierten Tumoren der Brust sind HR-positiv. Etwa 65-75% der Tumoren zeigen eine positive Färbung für den Östrogen- und/oder den Progesteronrezeptor [1]. Da das Wachstum dieser Tumoren hormonabhängig ist, bietet sich eine endokrine, die

Hormonrezeptoren blockierende Therapie an. Zusätzlich kann optional eine zytotoxische Chemotherapie gegeben werden, wobei nicht in allen Situationen klar ist, ob eine Patientin davon profitieren wird. In etwa 20-30% der Brustkrebserkrankungen wird das HER2-Protein überexprimiert [2]. Patientinnen mit HER2-positiven Tumoren sollten zusätzlichen zur Chemotherapie eine anti-HER2-Therapie erhalten. Eine HER2-Überexpression ist einer der wichtigsten prädiktiven und prognostischen Marker für das Ansprechen auf eine anti-HER2-Therapie, daher ist eine zuverlässige Bestimmung dieses Markers essentiell. Ein großes Problem stellt bei diesem Subtyp die primäre oder sekundäre Resistenz gegen eine anti-HER2- oder Chemotherapie dar. Ein besseres Verständnis der zugrundeliegenden Resistenzmechanismen kann zu einer Verbesserung der Therapiemöglichkeiten für diese Patientinnen führen. Nur etwa 10-20% der Tumoren der Mamma gehören zu der Gruppe des triple-negativen Brustkrebses [3]. Auf Grund fehlender Angriffspunkte für eine zielgerichtete Therapie haben diese Patientinnen die schlechteste Prognose, es sei denn, es kann ein vollständiges Ansprechen auf eine neoadjuvante Therapie erreicht werden. Patientinnen, die dieser Subpopulation angehören, erhalten stets eine Chemotherapie. Ein weiteres großes Problem stellt hier die primäre Resistenz dar, daher könnten diese Patientinnen besonders von neuen Therapieansätzen wie einer neoadjuvanten Therapie mit nanoparticle albumin-bound- (*nab*-)Paclitaxel profitieren.

1.2 SPARC als potentieller Biomarker

Das Glykoprotein SPARC (**S**ecreted **P**rotein **A**cidic and **R**ich in **C**ysteine) wird von Zellen sezerniert und kann durch Interaktion mit Bestandteilen der extrazellulären Matrix Wechselwirkungen zwischen Zellen und ihrer Umgebung vermitteln [4]. Eine differentielle Expression von SPARC in Tumorzellen, sowie in dem den Tumor umgebenden Stroma ist für viele verschiedene Krebsentitäten beschrieben [5-12]. Im Mammakarzinom ist in der Literatur eine im Vergleich zum Normalgewebe höhere Expression von SPARC im Tumor beschrieben [8-11]. Dies macht SPARC als potentiellen Biomarker in Tumoren der Brust interessant. Zusätzlich ist SPARC für die translationale Forschung von besonderem Interesse, da es mit Albumin interagieren und daher als Biomarker für ein Ansprechen auf eine Therapie mit *nab*-Paclitaxel dienen könnte [13]. Aus diesem Grund ist SPARC auch im Pankreaskarzinom als potentieller Biomarker denkbar. Im Vergleich zum Normalgewebe wird SPARC im Pankreaskarzinom ebenfalls überexprimiert [14].

1.3 Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit war es, zur Verbesserung der Therapiemöglichkeiten im Mammakarzinom beizutragen. Dies erfolgt zum einen durch die Evaluation des potentiellen Biomarkers SPARC zur Prädiktion des Therapieansprechens und zum anderen durch den Versuch einer besseren Eingrenzung der intrinsischen Subtypen, im Besonderen der HER2-positiven Tumoren, sowie der Untersuchung möglicher Resistenzmechanismen gegen eine anti-HER2-Therapie.

Folgende Fragen sollen im Einzelnen beantwortet werden:

- Wird das Glykoprotein SPARC im Mammakarzinom exprimiert? Gibt es Unterschiede in der Expression zwischen den Subtypen und besteht ein Zusammenhang zwischen SPARC Expression und dem Ansprechen auf eine neoadjuvante Therapie? Zusätzlich wurde SPARC auch im Pankreaskarzinom untersucht. Hier lag der Fokus darauf, in Erfahrung zu bringen, ob es einen Zusammenhang zwischen der Überlebensdauer und der Expression von SPARC gibt und ob dieser Zusammenhang in Korrelation mit einer erfolgten adjuvanten Therapie steht.
- Steht das Ansprechen auf eine neoadjuvante Chemotherapie und Trastuzumab bei HER2-positiven Brustkrebspatientinnen mit der Höhe der mRNA Expression des HER2- und Östrogenrezeptors in Zusammenhang?
- Besteht ein Zusammenhang zwischen dem PIK3CA (Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase, catalytic subunit alpha) Genotyp und dem Therapieansprechen auf verschiedene anti-HER2-Therapien in HER2-positiven Tumoren der Mamma?

2 Methodik

2.1 Patientinnenkollektive

Die Patientinnenkollektive bestehen aus verschiedenen neoadjuvanten Phase II (GeparSixto) und III (GeparTrio, GeparQuattro, GeparQuinto) Studien der German Breast Group, sowie der CONKO-001 Studie der Deutschen Krebsgesellschaft und der Charité Universitätsmedizin Berlin.

2.1.1 Neoadjuvante Mammakarzinom-Studien

2.1.1.1 GeparTrio

Ziel der neoadjuvanten GeparTrio (G3) Studie (NCT 00544765) war es zu untersuchen, ob Patientinnen mit primären Mammakarzinomen ohne klinisches Ansprechen auf zwei Zyklen TAC (Docetaxel, Doxorubicin und Cyclophosphamid) von einer Umstellung auf NX (Vinorelbin und Capecitabin) profitieren. Diese prospektiv durchgeführte Phase III Studie besteht aus einer Pilot- und einer Hauptstudie. Alle Patientinnen wurden zunächst mit zwei Zyklen TAC behandelt. Bei Patientinnen mit klinischem Ansprechen wurde die Therapie mit vier (Pilotstudie) bzw. sechs (Hauptstudie) Zyklen fortgesetzt. Patientinnen ohne klinisches Ansprechen wurden randomisiert, entweder zu vier weiteren Zyklen TAC oder vier Zyklen NX [15-17].

2.1.1.2 GeparQuattro

Primäres Ziel der GeparQuattro (G4) Studie (NCT 00288002) war es, die Effektivität einer simultanen oder sequenziellen Gabe von Capcitabin zu EC (Epirubicin simultan verabreicht mit Cyclophosphamid) und Docetaxel mit oder ohne Trastuzumab als neoadjuvante Behandlung von primären Mammakarzinomen zu untersuchen. Alle Patientinnen erhielten zunächst vier Zyklen EC. Danach wurde randomisiert. Arm A erhielt vier Zyklen Docetaxel. Arm B erhielt vier Zyklen Docetaxel und simultan vier Zyklen Capecitabin. Arm C erhielt vier Zyklen Docetaxel, gefolgt von vier Zyklen Capecitabin. Zusätzlich erhielten Patientinnen mit HER2-positiven Tumoren eine begleitende Behandlung mit Trastuzumab [18, 19].

2.1.1.3 GeparQuinto

Die GeparQuinto (G5) Studie (NTC 00567554) diente der Untersuchung zur Kombination von Bevacizumab, RAD001 oder Lapatinib mit einer neoadjuvanten Chemotherapie beim primären Mammakarzinom. Dies wurde in drei Settings getestet. In Setting I bekamen Patientinnen mit HER2-negativen Tumoren eine neoadjuvante Therapie mit EC, gefolgt von Docetaxel mit oder ohne Bevacizumab. In Setting II bekamen Patientinnen mit HER2-negativen Tumoren, bei denen nach vier Zyklen EC sonographisch kein Ansprechen auf die Therapie erkennbar war, wöchentlich Paclitaxel mit oder ohne RAD001. In Setting III wurden Patientinnen mit HER2-positivem Mammakarzinom nach neoadjuvanter Therapie mit EC mit einer Kombination aus Docetaxel mit Trastuzumab oder Lapatinib behandelt [20].

2.1.1.4 GeparSixto

Im Rahmen der GeparSixto (G6) Studie (NCT 01426880) wurde die Hinzunahme von Carboplatin zur neoadjuvanten Chemotherapie bei Patientinnen mit triple-negativem oder HER2-positivem Brustkrebs untersucht. Alle Patientinnen erhielten Paclitaxel und liposomales, nicht-pegyliertes Doxorubicin. Patientinnen mit HER2-positiven Tumoren erhielten zusätzlich Trastuzumab und Lapatinib und Patientinnen mit triple-negativen Tumoren Bevacizumab. Die Patientinnen wurden auf zwei Studienarme aufgeteilt: Arm A erhielt die beschriebene Chemotherapie und Arm B zusätzlich Carboplatin [21].

2.1.2 Adjuvante Pankreaskarzinom-Studie

2.1.2.1 CONKO-001

Diese offene, multizentrische, randomisierte Phase III Studie untersuchte, ob eine adjuvante Chemotherapie mit Gemcitabine das rezidivfreie Überleben von Patienten mit Pankreaskarzinom verbessert. Als Vergleichsgruppe dienen Patienten mit reiner Beobachtung als Nachsorge [22].

2.2 Methoden

2.2.1 Immunhistochemie

Die immunhistologischen Färbungen für SPARC wurden auf TMAs (tissue microarrays) durchgeführt. Für die SPARC-Färbung wurde der Antikörper NCL-O-NECTIN Clon 15G12 (Novocastra; Wetzlar, Germany) in einer Verdünnung von 1:100 nach Standardprotokoll verwendet. Im Anschluss an die Färbung wurden die Schnitte digitalisiert (Mirax Scan; Carl Zeiss Jena, Jena, Germany) und virtuell mit dem VMscope Slide Explorer (VMscope, Berlin, Germany) ausgewertet [23, 24]. Für die Tumorzellen wurde die Intensität der Färbung (negativ = 0, schwach = 1, moderat = 2 und stark = 3) und der Prozentsatz der positiven Tumorzellen (0% = 0, 1-10% = 1, 11-50% = 2, 51-80% = 3, 81-100% = 4) ausgewertet und zu einem Immunreaktiven Score (IRS) von 1-12 multipliziert [25]. Der Cutoff für hohe und niedrige SPARC Expression wurde mit Hilfe der Software Cutoff Finder berechnet [26]. Im Tumorstroma wurde lediglich die Intensität der Färbung beurteilt.

2.2.2 RNA Extraktion und quantitative RT-PCR

Die RNA Extraktion erfolgte aus einem 10µm FFPE Schnitt mit dem VERSANT Tissue Preparation System (Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, NY, USA) [27, 28]. Neben den Zielgenen ESR1 und HER2 wurden CALM2, OAZ1 und RPL37A als Housekeeping-Gene, sowie HBB als Kontrolle auf DNA-Kontamination gemessen. Der RNA-Gehalt einer Probe wurde als ausreichend für die Messung definiert wenn der Mittelwert der CT-Werte der Housekeeping-Gene unter 30,6 lag. Der CT-Wert für HBB musste über 36 betragen. Außerdem wurde bei jeder Messung eine Negativkontrolle sowie die Stratagene qRef Human Reference Total RNA (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) als Positivkontrolle mitgeführt. Die Reaktionen wurden jeweils als Triplikate mit dem SuperScript III PLATINUM One-Step qRT-PCR System mit ROX (Invitrogen, Karlsruhe, Germany) auf dem Agilent Mx3005 (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) durchgeführt. Die reverse Transkription erfolgte für 30 Minuten bei 50°C, gefolgt von 2 Minuten bei 95°C zur Aktivierung der Taq-Polymerase. Gemessen wurde über 40 Zyklen mit 15 Sekunden bei 95°C und 30 Sekunden bei 60°C [29]. Für jede Probe wurde die Expression der Zielgene relativ zur Expression des Mittelwertes der Housekeeping-Gene wie folgt berechnet:

$$\Delta CT = 20 - (CT_{\text{Zielgen}} - CT_{\text{Mittelwert der Housekeeping-Gene}})$$

Die Cutoffs für ESR1 und HER2 wurden auf Grundlage vorheriger Studien vordefiniert und mittels einer Offset-Messung auf diese Studie übertragen [27, 30, 31].

2.2.3 DNA Extraktion und Sequenzierung nach Sanger

Die DNA Extraktion erfolgte aus einem 5µm FFPE Schnitt mit dem VERSANT Tissue Preparation System (Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, NY, USA) [28]. Für die Sequenzierung wurden jeweils ein Abschnitt aus Exon 9 und Exon 20 des PIK3CA-Gens mit bekannten Mutationshotspots ausgewählt [32]. Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurde unter Standardbedingungen wie folgt durchgeführt: 10 Minuten bei 94°C gefolgt von 40 Sekunden bei 94°C. Für Exon 9 folgte darauf eine Minute bei einer spezifischen Annealing-Temperatur von 56°C und für Exon 20 bei 55°C im Wechsel mit einer Minute bei 72°C für 42 Zyklen und anschließend 10 Minuten bei 72°C. Es wurden 250ng DNA in einem Reaktionsvolumen von 25µl eingesetzt. Die PCR Produkte wurden mit Hilfe des QIAquick PCR Purification Kits (Quiagen) aufgereinigt und anschließend die Qualität der DNA durch Auftrennung mittels Gelelektrophorese überprüft. Die Sequenzierung wurde auf dem 3100 Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) durchgeführt. Die Reaktionen wurden mit 5pM von jedem Primer und dem Big Dye Terminator Cycle Sequencing Mix v1.1 (Applied Biosystems) angesetzt. Das Alignment und die Quantifizierung der mutierten Sequenzen wurden mithilfe der SeqScape 2.1.1 und SeqAnalysis 5.1.1 Software (Applied Biosystems) durchgeführt [33].

2.2.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit den Statistikprogrammen SPSS 19.0 und 21.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) und GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA). Für die Korrelationen mit klinischen und pathologischen Parametern wurden der exakte Test nach Fisher und der Chi-Quadrat-Test verwendet. Das Überleben der Patienten in Abhängigkeit der Expression eines Markers wurde mit der Kaplan-Meier-Methode und dem Log-Rank-Test sowie mit dem Cox-Regressionsmodell analysiert. Der Einfluss von HER2-mRNA Expression innerhalb der ESR1-positiven bzw. -negativen Tumoren wurde mittels subpopulation treatment effect pattern plot (STEPP)-Analyse analysiert [34]. In allen Tests wurden p-Werte < 0,05 als statistisch signifikant betrachtet.

3 Ergebnisse

3.1 Expression des Glykoproteins SPARC und Ansprechen auf neoadjuvante Chemotherapie im Mammakarzinom

Lindner JL, Loibl S, Denkert C, Ataseven B, Fasching PA, Pfitzner BM, Gerber B, Gade S, Darb-Esfahani S, Sinn BV, Huober J, Engels K, Tesch H, Karn T, Pommerenke F, Liedtke C, Untch M, Müller V, Rack B, Schem C, and von Minckwitz G. *Expression of secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) in breast cancer and response to neoadjuvant chemotherapy*. Ann Oncol, 2015. **26**(1): p. 95-100.

Ziel dieser Studie war es, die Expression des Glykoproteins SPARC in den verschiedenen molekularen Brustkrebssubtypen zu untersuchen und darüber hinaus auf einen Zusammenhang zwischen SPARC-Expression und Ansprechen auf neoadjuvante Chemotherapie zu testen. Dazu wurden Proben von 667 Patientinnen aus der GeparTrio Studie immunhistochemisch mit einem Antikörper gegen SPARC gefärbt. Eine hohe SPARC Expression ($IRS \geq 6$) konnte in 176 (26%) und eine niedrige ($IRS < 6$) in 491 (74%) der untersuchten Proben beobachtet werden. Im Vergleich der molekularen Subtypen zeigte sich, dass triple-negative Tumoren häufiger SPARC positiv waren (37%) als HR-positive (23% HR+/HER2-) und HER2-positive (29% HER2+/HR+ bzw. 22% HER2+/HR-; $P = 0.037$). Tumoren mit einer hohen SPARC Expression zeigten eine erhöhte pCR-Rate von 27% im Vergleich zu 15% bei Patientinnen mit niedriger SPARC Expression ($P < 0,001$). Innerhalb der TNBC lag die pCR-Rate bei 47% für Patientinnen mit hoher SPARC-Expression im Vergleich zu 26% bei niedriger Expression ($P = 0,032$). Diese Ergebnisse bestätigten sich auch in Analysen durch uni- und multivariable logistische Regression. In der multivariablen Analyse waren SPARC-Expression, der Hormonrezeptorstatus und der HER2-Status unabhängige prädiktive Faktoren für die pCR. Innerhalb der TNBC waren nur die SPARC-Expression und das Alter der Patientinnen bei der Diagnose unabhängig prädiktiv. Eine statistisch signifikante prognostische Relevanz für das Überleben der Patientinnen konnte nicht gezeigt werden. Die Studie zeigt, dass SPARC im Mammakarzinom differentiell exprimiert wird, wobei TNBC-Tumoren häufiger positiv waren als die übrigen Subtypen. Darüber hinaus zeigten Tumoren mit einer hohen SPARC-Expression eine höhere pCR-Rate als solche, mit niedriger Expression. Diese Ergebnisse untermauern die Annahme, dass SPARC als potentieller Biomarker besonders im triple-negativen Mammakarzinom von Nutzen sein könnte.

3.2 Expression des Glykoproteins SPARC im mit Gemcitabine behandelten Pankreaskarzinom

Sinn M, Sinn BV, Striefler JK, Lindner JL, Stieler JM, Lohneis P, Bischoff S, Blaker H, Pelzer U, Bahra M, Dietel M, Dorken B, Oettle H, Riess H, and Denkert C. *SPARC expression in resected pancreatic cancer patients treated with gemcitabine: results from the CONKO-001 study*. Ann Oncol, 2014. **25**(5): p. 1025-32.

Die Patienten der CONKO-001 Studie erhielten im Rahmen einer randomisierten Phase III Studie adjuvant Gemcitabine. Die Kontrollgruppe wurde nicht therapiert. Als Resultat konnte festgestellt werden, dass die Gabe von Gemcitabine die Entwicklung eines Rezidivs um etwa sechs Monate verzögerte und die Überlebenszeit verbesserte [22]. Ziel unserer Untersuchung war es, einen Zusammenhang zwischen SPARC-Expression und Überlebensdauer bei behandelten und unbehandelten Patienten zu prüfen. Dabei wurde die Hypothese aufgestellt, dass ein Einfluss auf die Prognose nur bei Patienten, die mit Gemcitabine behandelt wurden, zu sehen ist. 160 Proben wurden immunhistochemisch auf eine SPARC Expression untersucht. 74% der untersuchten Fälle zeigten eine niedrige bzw. negative SPARC-Expression im Zytoplasma der Tumorzellen und 26% eine hohe Expression. Im Tumorstroma konnte in 58% eine starke, in 36% eine moderate, in 5% eine niedrige und in 1% keine Expression von SPARC detektiert werden. Eine hohe SPARC-Expression im Stroma war mit einem schlechteren krankheitsfreien Überleben korreliert. Patienten mit einer starken SPARC-Expression hatten eine mediane progressionsfreie Überlebenszeit von 9 Monaten, bei niedriger stromaler SPARC-Expression waren es 12,6 Monate ($P = 0,005$). Dies zeigte sich auch im Gesamtüberleben mit 19,8 Monaten medianer Überlebenszeit bei starker stromaler Expression, im Vergleich zu 26,6 Monaten bei niedriger Expression ($P = 0,033$). Stratifizierte Analysen zeigten, dass dieser Effekt von den mit Gemcitabine behandelten Patienten ausgeht. Diese Patienten hatten bei hoher SPARC-Expression ein signifikant schlechteres progressionsfreies und Gesamtüberleben (progressionsfreies Überleben: 12,1 Monate bei hoher SPARC Expression im Vergleich zu 18,4 Monate bei niedriger Expression; $P = 0,007$; Gesamtüberleben: 17,9 Monate bei hoher und 30,2 Monate bei niedriger SPARC Expression; $P = 0,006$). Bei den unbehandelten Patienten konnte dies nicht beobachtet werden. Auch eine hohe Expression von SPARC im Zytoplasma der Tumorzellen war mit einem signifikant schlechteren progressionsfreien und Gesamtüberleben assoziiert. Zusammengefasst zeigt die Studie einen negativ prognostischen Einfluss von SPARC für Patienten mit Pankreaskarzinom, welche adjuvant mit Gemcitabine behandelt wurden.

3.3 HER2 und ESR1 RNA Expression und Ansprechen auf neoadjuvante Chemotherapie plus Trastuzumab im Mammakarzinom

Denkert C, Huober J, Loibl S, Prinzler J, Kronenwett R, Darb-Esfahani S, Brase JC, Solbach C, Mehta K, Fasching PA, Sinn BV, Engels K, Reinisch M, Hansmann ML, Tesch H, von Minckwitz G, and Untch M. HER2 and ESR1 mRNA expression levels and response to neoadjuvant trastuzumab plus chemotherapy in patients with primary breast cancer. Breast Cancer Res, 2013. **15**(1): p. R11.

Klinische Studien belegen, dass sich die Rezidivrate durch die Zugabe von Trastuzumab zur Chemotherapie bei Patientinnen mit HER2-positivem Brustkrebs etwa halbieren lässt [35]. Ziel dieser Untersuchung war es zu prüfen, ob das Ansprechen von Brustkrebspatientinnen auf eine Chemotherapie mit Trastuzumab mit der Expression der HER2- und der Östrogenrezeptor (ESR1)-mRNA in Verbindung steht. Dieser Hypothese wurde an 217 Patientinnen der GeparQuattro-Studie nachgegangen. Alle eingeschlossenen Patientinnen wurden in den lokalen Pathologien als HER2-positiv eingestuft und erhielten neoadjuvant Trastuzumab sowie eine anthrazyklin- und taxanhaltige Chemotherapie. Der HER2-Status wurde im Institut für Pathologie der Charité Berlin zentral erneut bestimmt. Dabei wurden drei unterschiedliche Methoden angewandt: HER2 Immunhistochemie (IH), HER2 Silber in-situ Hybridisierung (SISH) und die Messung der HER2-mRNA mittels qRT-PCR. Von besonderem Interesse war, ob die pCR mit dem Expressionslevel der HER2- und ESR1-mRNA in Zusammenhang steht. Bei der zentralen Reevaluation des HER2-Status wurden 158 (72,8%) Tumoren als zentral HER2-positiv und 59 (27,2%) als zentral HER2-negativ gewertet. Die pCR-Raten waren in den zentral HER2-positiven Fällen signifikant höher. Je nachdem, welche Methode der HER2-Bestimmung angewendet wurde, lag die pCR-Rate bei 47% (Kombination IH/SISH), 47% (IH), 54% (SISH copy number) und 53% (SISH Ratio). In den zentral HER2-negativen Fällen lag die pCR-Rate je nach Methode bei 20-23% ($P = 0,004$ für IH, alle anderen Methoden $P < 0,005$). Für HER2-mRNA war die pCR-Rate 49,6% in der positiven Gruppe und 21,1% in der negativen Gruppe ($P < 0,005$). Um den Einfluss von HER2-mRNA Expression innerhalb der ESR1-positiven bzw. negativen Tumoren zu untersuchen, wurde eine STEPP Analyse durchgeführt. Innerhalb der ESR1-positiven Tumoren war die HER2-mRNA Expression signifikant mit der pCR-Rate verbunden. Die pCR-Rate stieg mit steigender HER2-mRNA Expression an. Dies konnte für die ESR1-negativen Tumoren nicht beobachtet werden. Zusammengefasst zeigt die Studie eine erhöhte pCR-Rate nach einer Chemotherapie plus Trastuzumab bei zentral HER2-positiven Patientinnen, unabhängig davon, welche Methode der HER2-Bestimmung genutzt wurde. Eine Korrelation zwischen dem Ansprechen auf Trastuzumab und dem Level der HER2-mRNA-Expression zeigte sich nur innerhalb der Gruppe von Patientinnen mit ESR1-positiven Tumoren.

3.4 PIK3CA Mutationen sind mit geringerem Ansprechen auf anti-HER2-Therapie im HER2-positiven Mammakarzinom assoziiert

Loibl S, von Minckwitz G, Schneeweiss A, Paepke S, Lehmann A, Rezai M, Zahm DM, Sinn P, Khandan F, Eidtmann H, Dohnal K, Heinrichs C, Huober J, Pfitzner B, Fasching PA, Andre F, Lindner JL, Sotiriou C, Dykgers A, Guo S, Gade S, Nekljudova V, Loi S, Untch M, and Denkert C. *PIK3CA Mutations Are Associated With Lower Rates of Pathologic Complete Response to Anti-Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) Therapy in Primary HER2-Overexpressing Breast Cancer*. J Clin Oncol, 2014.

In einer Vielzahl von Tumoren ist der PI3K/AKT/mTor-Signalweg konstitutiv aktiviert und trägt dadurch zu Onkogenese, Tumorwachstum und Therapieresistenz bei [36, 37]. PI3K (Phosphatidylinositol-3-Kinase) wird durch das PIK3CA Gen reguliert, welches in etwa 20% der Mammatumoren mutiert ist. In HER2-positiven Tumoren scheint eine PIK3CA Mutation und die konstitutive Aktivierung des PI3K-Signalweges eine entscheidende Rolle in der Entwicklung einer Resistenz gegen Trastuzumab zu spielen [37]. Ziel dieser Studie war, eine Assoziation zwischen dem PIK3CA Genotyp und dem Erreichen einer pCR in HER2-positiven Tumoren, die mit einfacher (Trastuzumab in G4; Trastuzumab oder Lapatinib in G5) oder dualer (Trastuzumab plus Lapatinib in G6) anti-HER2-Medikation zusätzlich zur neoadjuvanten Chemotherapie behandelt wurden, zu untersuchen. Insgesamt wurden 504 FFPE-Tumorproben untersucht. Eine Mutation von PIK3CA in einem der Hotspots in Exon 9 oder Exon 20 konnte in 21,4% der Proben nachgewiesen werden. Das Vorhandensein einer PIK3CA-Mutation korrelierte signifikant mit einer niedrigeren pCR-Rate, so erreichten nur 19,4% der Patientinnen mit PIK3CA-Mutation eine Komplettremission im Vergleich zu 32,8% der Patientinnen mit PIK3CA-Wildtyp ($P = 0,008$). Innerhalb der HR-positiven/HER2-positiven Patientinnen lag die pCR-Rate bei 11,3% mit PIK3CA-Mutation und 27,5% ohne Mutation ($P = 0,011$). Bei den HR-negativen Patientinnen lag die pCR-Rate bei 30,4% mit PIK3CA Mutation und 40,1% ohne Mutation ($P = 0,233$). Auch der Zusammenhang von PIK3CA-Genotyp und pCR in Abhängigkeit von der erhaltenen anti-HER2-Therapie wurde betrachtet. Patientinnen mit PIK3CA-Mutationen hatten pCR-Raten von 16% (Lapatinib), 24,3% (Trastuzumab) und 17,4% (Lapatinib + Trastuzumab) ($P = 0,645$). Im Vergleich dazu lagen die pCR-Raten bei 18,2% (Lapatinib), 33% (Trastuzumab) und 37,1% (Lapatinib + Trastuzumab) in der Wildtyp-Gruppe ($P = 0,017$). Ein signifikanter Zusammenhang mit dem progressionsfreien oder Gesamtüberleben konnte nicht beobachtet werden. Diese Studie konnte zeigen, dass Patientinnen mit PIK3CA-mutierten, HER2-positiven Tumoren mit geringerer Wahrscheinlichkeit eine pCR erreichen, unabhängig davon, welche anti-HER2-Medikation gegeben wurde.

4 Diskussion

Die neoadjuvante Chemotherapie verbessert nicht nur die Chancen auf eine brusterhaltende Operation, sie bietet auch die Möglichkeit, die Wirkung der Therapie auf das Tumorgewebe zu beurteilen und so das weitere Therapievorgehen individuell zu planen. Dadurch eignet sich diese Form der Therapie besonders zur Testung neuartiger Therapieansätze, sowie zur Evaluation von Biomarkern zur Prädiktion und Prognose. Ein Angriffspunkt zur Therapieverbesserung ist die Evaluation neuer Biomarker zur besseren Voraussagbarkeit eines Therapieansprechens auf die neoadjuvante Chemotherapie. In diesem Zusammenhang wurde in dieser Arbeit das Glykoprotein SPARC als potentieller Biomarker im Mammakarzinom und zusätzlich im Pankreaskarzinom untersucht. Im Mammakarzinom konnte SPARC als unabhängiger prädiktiver Marker für das Therapieansprechen identifiziert werden. Eine hohe SPARC-Expression ging mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit, nach neoadjuvanter Chemotherapie eine pCR zu erreichen, einher. Dieser Zusammenhang zeigte sich besonders deutlich bei Patientinnen mit triple-negativem Brustkrebs, in diesen Tumoren war SPARC auch besonders häufig hoch exprimiert. Im Pankreaskarzinom war eine hohe Expression von SPARC mit einem schlechteren progressionsfreien und Gesamtüberleben bei den mit Gemcitabine behandelten Patienten assoziiert. Zusammengenommen deuten diese Ergebnisse darauf hin, dass SPARC als potentieller Biomarker in verschiedenen Tumorentitäten und Therapieansätzen von Nutzen sein kann. Von besonderem Interesse, sowohl im Mamma- als auch im Pankreaskarzinom, könnte SPARC für die Prädiktion des Ansprechens auf eine Therapie mit *nab*-Paclitaxel sein, da SPARC Albumin mit hoher Affinität binden kann [38] und so einen zielgerichteten Transport und eine Anreicherung des Wirkstoffs im Tumorgewebe bewirken könnte. Es wird angenommen, dass dies, neben einer höheren Effektivität der Therapie, auch zu einer besseren Verträglichkeit des Medikaments führen kann [39]. Sowohl für das Pankreas- als auch für das Mammakarzinom konnte bereits ein hohes Ansprechen auf eine Therapie mit *nab*-Paclitaxel gezeigt werden [40-42]. Die Entwicklung validierter Tests zur Bestimmung von SPARC könnte dementsprechend im Mamma- und im Pankreaskarzinom für die Prädiktion auf ein Therapieansprechen mit *nab*-Paclitaxel genutzt werden. In der neoadjuvante GeparSepto-Studie wurde untersucht, ob die Gabe von *nab*-Paclitaxel im Vergleich zu (lösungsmittelhaltigem) Paclitaxel zu einer Verbesserung der pCR-Rate führt. In ersten Auswertungen dieser Studie konnte zwar festgestellt werden,

dass *nab*-Paclitaxel im Vergleich zu Paclitaxel die pCR-Rate signifikant erhöht, ein signifikanter Zusammenhang zwischen SPARC-Expression und Ansprechen auf eine Chemotherapie mit *nab*-Paclitaxel konnte allerdings nicht festgestellt werden [43]. Ob SPARC als Biomarker im klinischen Alltag von Nutzen ist, wird kontrovers diskutiert und ist Thema aktueller Forschungsprojekte [44, 45].

Entscheidend für die Wahl der optimalen Therapie eines Mamakarzinoms ist die Abgrenzung des intrinsischen Subtyps. So können Patientinnen mit HER2-positiven Tumoren mit anti-HER2-Medikation behandelt und dadurch ihre Überlebenschancen verbessert werden [35]. Zusätzlich kann die HER2-Expression auch als Marker zur Prädiktion und Prognose genutzt werden. Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war es zu prüfen, ob der Erfolg einer neoadjuvanten Chemotherapie plus Trastuzumab von der Höhe der mRNA-Expression der Hormonrezeptoren und HER2 abhängig ist. Bei der Reevaluation des HER2-Status zeigte sich eine Diskordanz von 27% zwischen lokal und zentral bestimmtem HER2-Status. Gründe dafür können vielfältig und zum Beispiel im Fixierungs-, Färbe- oder Auswertungsprozess zu finden sein. Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass das Ansprechen auf neoadjuvante Chemotherapie plus Trastuzumab innerhalb der ESR1-/HER2-positiven Tumoren mit steigender HER2-mRNA-Expression ebenfalls ansteigt. Das Wachstum dieser Tumoren scheint in größerer Abhängigkeit des HER2-Signalweges zu stehen und daher auch ein besseres Ansprechen auf Trastuzumab zu zeigen. Einige Tumoren zeigen trotz HER2-Positivität ein schlechtes Ansprechen oder eine Resistenz auf eine Therapie mit Trastuzumab. Bei der Entwicklung dieser Resistenzmechanismen scheint eine Mutation in PIK3CA eine entscheidende Rolle zu spielen. Unsere Untersuchungen zeigen, dass Patientinnen mit HER2-positiven Tumoren und einer PIK3CA-Mutation trotz neoadjuvanter Chemotherapie und anti-HER2-Therapie eine geringere Chance haben, eine Komplettremission zu erreichen. Die Hypothese, dass HER2-positive Patientinnen mit einer PIK3CA-Mutation von einer dualen anti-HER2-Therapie profitieren würden, konnte nicht belegt werden. Eine Mutation im PIK3CA-Gen war immer mit einer niedrigeren pCR-Rate korreliert unabhängig davon, welche anti-HER2-Therapie die Patientinnen erhielten. Gestützt werden unsere Daten durch die Ergebnisse der Neo-ALTTO Studie. Auch hier konnte ein Zusammenhang zwischen PIK3CA Mutationen und einer geringeren pCR-Rate unabhängig von Therapie und Hormonrezeptorstatus festgestellt werden [46]. Diese Erkenntnisse legen nahe, dass es sinnvoll sein könnte, alternativen Therapien wie PI3K-Inhibitoren in PIK3CA-

mutierten, HER2-positiven Mammatumoren zu untersuchen. Zusammengefasst wurden in der vorliegenden Arbeit potentielle Biomarker auf DNA-, RNA- und Proteinebene zur besseren Charakterisierung des Tumors, mit dem Ziel, eine Verbesserung des Therapieerfolgs im Mamma- und Pankreaskarzinom zu erreichen, untersucht. Auf allen drei Ebenen konnten die zu untersuchenden Marker in den jeweiligen Patientenproben bestimmt und evaluiert werden. Die daraus resultierenden Ergebnisse dienen als solide Grundlage zur Durchführung weiterer Forschungsprojekte.

5 Literatur

1. Miller E, Lee HJ, Lulla A, Hernandez L, Gokare P, and Lim B. *Current treatment of early breast cancer: adjuvant and neoadjuvant therapy*. F1000Res, 2014. 3: p. 198.
2. Yarden Y. *Biology of HER2 and its importance in breast cancer*. Oncology, 2001. 61 Suppl 2: p. 1-13.
3. Le Du F, Eckhardt BL, Lim B, Litton JK, Moulder S, Meric-Bernstam F, Gonzalez-Angulo AM, and Ueno NT. *Is the future of personalized therapy in triple-negative breast cancer based on molecular subtype?* Oncotarget, 2015. 6(15): p. 12890-12908.
4. Framson PE, and Sage EH. *SPARC and tumor growth: where the seed meets the soil?* J Cell Biochem, 2004. 92(4): p. 679-90.
5. Puolakkainen PA, Brekken RA, Muneer S, and Sage EH. *Enhanced growth of pancreatic tumors in SPARC-null mice is associated with decreased deposition of extracellular matrix and reduced tumor cell apoptosis*. Mol Cancer Res, 2004. 2(4): p. 215-24.
6. Yiu GK, Chan WY, Ng SW, Chan PS, Cheung KK, Berkowitz RS, and Mok SC. *SPARC (secreted protein acidic and rich in cysteine) induces apoptosis in ovarian cancer cells*. Am J Pathol, 2001. 159(2): p. 609-22.
7. Cheetham S, Tang MJ, Mesak F, Kennecke H, Owen D, and Tai IT. *SPARC promoter hypermethylation in colorectal cancers can be reversed by 5-Aza-2'deoxyctidine to increase SPARC expression and improve therapy response*. Br J Cancer, 2008. 98(11): p. 1810-9.
8. Bellahcene A, and Castronovo V. *Increased expression of osteonectin and osteopontin, two bone matrix proteins, in human breast cancer*. Am J Pathol, 1995. 146(1): p. 95-100.
9. Jones C, Mackay A, Grigoriadis A, Cossu A, Reis-Filho JS, Fulford L, Dexter T, Davies S, Bulmer K, Ford E, Parry S, Budroni M, Palmieri G, Neville AM, O'Hare MJ, and Lakhani SR. *Expression profiling of purified normal human luminal and myoepithelial breast cells: identification of novel prognostic markers for breast cancer*. Cancer Res, 2004. 64(9): p. 3037-45.
10. Lien HC, Hsiao YH, Lin YS, Yao YT, Juan HF, Kuo WH, Hung MC, Chang KJ, and Hsieh FJ. *Molecular signatures of metaplastic carcinoma of the breast by large-scale transcriptional profiling: identification of genes potentially related to epithelial-mesenchymal transition*. Oncogene, 2007. 26(57): p. 7859-71.
11. Watkins G, Douglas-Jones A, Bryce R, Mansel RE, and Jiang WG. *Increased levels of SPARC (osteonectin) in human breast cancer tissues and its association with clinical outcomes*. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2005. 72(4): p. 267-72.
12. Ledda F, Bravo AI, Adris S, Bover L, Mordoh J, and Podhajcer OL. *The expression of the secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) is associated with the neoplastic progression of human melanoma*. J Invest Dermatol, 1997. 108(2): p. 210-4.
13. Denkert C, and Prinzler J. *Das Glykoprotein SPARC als neuer potentieller prognostischer und prädiktiver Biomarker*, in *Nanotechnologie beim Mammakarzinom - Grundlagen und aktuelle Perspektiven* J. Bischoff, Editor. 2013, UNI-MED: Bremen.
14. Guweidhi A, Kleeff J, Adwan H, Giese NA, Wente MN, Giese T, Buchler MW, Berger MR, and Friess H. *Osteonectin influences growth and invasion of pancreatic cancer cells*. Ann Surg, 2005. 242(2): p. 224-34.
15. von Minckwitz G, Blohmer JU, Raab G, Lohr A, Gerber B, Heinrich G, Eidtmann H, Kaufmann M, Hilfrich J, Jackisch C, Zuna I, Costa SD, and German Breast G. *In vivo chemosensitivity-adapted preoperative chemotherapy in patients with early-stage breast cancer: the GEPARTRIO pilot study*. Ann Oncol, 2005. 16(1): p. 56-63.
16. von Minckwitz G, Kummel S, Vogel P, Hanusch C, Eidtmann H, Hilfrich J, Gerber B, Huober J, Costa SD, Jackisch C, Loibl S, Mehta K, Kaufmann M, and German Breast G. *Intensified neoadjuvant chemotherapy in early-responding breast cancer: phase III randomized GeparTrio study*. J Natl Cancer Inst, 2008. 100(8): p. 552-62.
17. von Minckwitz G, Kummel S, Vogel P, Hanusch C, Eidtmann H, Hilfrich J, Gerber B, Huober J, Costa SD, Jackisch C, Loibl S, Mehta K, Kaufmann M, and German Breast G. *Neoadjuvant vinorelbine-capecitabine versus docetaxel-doxorubicin-cyclophosphamide in early nonresponsive breast cancer: phase III randomized GeparTrio trial*. J Natl Cancer Inst, 2008. 100(8): p. 542-51.
18. Untch M, Rezai M, Loibl S, Fasching PA, Huober J, Tesch H, Bauerfeind I, Hilfrich J, Eidtmann H, Gerber B, Hanusch C, Kuhn T, du Bois A, Blohmer JU, Thomssen C, Dan Costa S, Jackisch C, Kaufmann M, Mehta K, and von Minckwitz G. *Neoadjuvant treatment with trastuzumab in HER2-positive breast cancer: results from the GeparQuattro study*. J Clin Oncol, 2010. 28(12): p. 2024-31.

19. von Minckwitz G, Rezai M, Loibl S, Fasching PA, Huober J, Tesch H, Bauerfeind I, Hilfrich J, Eidtmann H, Gerber B, Hanusch C, Kuhn T, du Bois A, Blohmer JU, Thomssen C, Dan Costa S, Jackisch C, Kaufmann M, Mehta K, and Untch M. *Capecitabine in addition to anthracycline- and taxane-based neoadjuvant treatment in patients with primary breast cancer: phase III GeparQuattro study*. J Clin Oncol, 2010. 28(12): p. 2015-23.
20. Untch M, Loibl S, Bischoff J, Eidtmann H, Kaufmann M, Blohmer JU, Hilfrich J, Strumberg D, Fasching PA, Kreienberg R, Tesch H, Hanusch C, Gerber B, Rezai M, Jackisch C, Huober J, Kuhn T, Nekljudova V, von Minckwitz G, German Breast G, and Arbeitsgemeinschaft Gynakologische Onkologie-Breast Study G. *Lapatinib versus trastuzumab in combination with neoadjuvant anthracycline-taxane-based chemotherapy (GeparQuinto, GBG 44): a randomised phase 3 trial*. Lancet Oncol, 2012. 13(2): p. 135-44.
21. von Minckwitz G, Schneeweiss A, Loibl S, Salat C, Denkert C, Rezai M, Blohmer JU, Jackisch C, Paepke S, Gerber B, Zahm DM, Kummel S, Eidtmann H, Klare P, Huober J, Costa S, Tesch H, Hanusch C, Hilfrich J, Khandan F, Fasching PA, Sinn BV, Engels K, Mehta K, Nekljudova V, and Untch M. *Neoadjuvant carboplatin in patients with triple-negative and HER2-positive early breast cancer (GeparSixto; GBG 66): a randomised phase 2 trial*. Lancet Oncol, 2014. 15(7): p. 747-56.
22. Oettle H, Neuhaus P, Hochhaus A, Hartmann JT, Gellert K, Ridwelski K, Niedergethmann M, Zulke C, Fahlke J, Arning MB, Sinn M, Hinke A, and Riess H. *Adjuvant chemotherapy with gemcitabine and long-term outcomes among patients with resected pancreatic cancer: the CONKO-001 randomized trial*. JAMA, 2013. 310(14): p. 1473-81.
23. Sinn M, Sinn BV, Striefler JK, Lindner JL, Stieler JM, Lohneis P, Bischoff S, Blaker H, Pelzer U, Bahra M, Dietel M, Dorken B, Oettle H, Riess H, and Denkert C. *SPARC expression in resected pancreatic cancer patients treated with gemcitabine: results from the CONKO-001 study*. Ann Oncol, 2014. 25(5): p. 1025-32.
24. Lindner JL, Loibl S, Denkert C, Ataseven B, Fasching PA, Pfitzner BM, Gerber B, Gade S, Darb-Esfahani S, Sinn BV, Huober J, Engels K, Tesch H, Karn T, Pommerenke F, Liedtke C, Untch M, Muller V, Rack B, Schem C, and von Minckwitz G. *Expression of secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) in breast cancer and response to neoadjuvant chemotherapy*. Ann Oncol, 2015. 26(1): p. 95-100.
25. Remmele W, Hildebrand U, Hienz HA, Klein PJ, Vierbuchen M, Behnken LJ, Heicke B, and Scheidt E. *Comparative histological, histochemical, immunohistochemical and biochemical studies on oestrogen receptors, lectin receptors, and Barr bodies in human breast cancer*. Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol, 1986. 409(2): p. 127-47.
26. Budczies J, Klauschen F, Sinn BV, Gyorffy B, Schmitt WD, Darb-Esfahani S, and Denkert C. *Cutoff Finder: a comprehensive and straightforward Web application enabling rapid biomarker cutoff optimization*. PLoS One, 2012. 7(12): p. e51862.
27. Bohmann K, Hennig G, Rogel U, Poremba C, Mueller BM, Fritz P, Stoerckel S, and Schaefer KL. *RNA extraction from archival formalin-fixed paraffin-embedded tissue: a comparison of manual, semiautomated, and fully automated purification methods*. Clin Chem, 2009. 55(9): p. 1719-27.
28. Hennig G, Gehrman M, Stropp U, Brauch H, Fritz P, Eichelbaum M, Schwab M, and Schroth W. *Automated extraction of DNA and RNA from a single formalin-fixed paraffin-embedded tissue section for analysis of both single-nucleotide polymorphisms and mRNA expression*. Clin Chem, 2010. 56(12): p. 1845-53.
29. Denkert C, Huober J, Loibl S, Prinzler J, Kronenwett R, Darb-Esfahani S, Brase JC, Solbach C, Mehta K, Fasching PA, Sinn BV, Engels K, Reinisch M, Hansmann ML, Tesch H, von Minckwitz G, and Untch M. *HER2 and ESR1 mRNA expression levels and response to neoadjuvant trastuzumab plus chemotherapy in patients with primary breast cancer*. Breast Cancer Res, 2013. 15(1): p. R11.
30. Muller BM, Kronenwett R, Hennig G, Euting H, Weber K, Bohmann K, Weichert W, Altmann G, Roth C, Winzer KJ, Kristiansen G, Petry C, Dietel M, and Denkert C. *Quantitative determination of estrogen receptor, progesterone receptor, and HER2 mRNA in formalin-fixed paraffin-embedded tissue--a new option for predictive biomarker assessment in breast cancer*. Diagn Mol Pathol, 2011. 20(1): p. 1-10.
31. Pentheroudakis G, Kalogeris KT, Wirtz RM, Grimani I, Zografos G, Gogas H, Stropp U, Pectasides D, Skarlos D, Hennig G, Samantas E, Bafaloukos D, Papakostas P, Kalofonos HP, Pavlidis N, and Fountzilas G. *Gene expression of estrogen receptor, progesterone receptor and microtubule-associated protein Tau in high-risk early breast cancer: a quest for molecular predictors of treatment benefit in the context of a Hellenic Cooperative Oncology Group trial*. Breast Cancer Res Treat, 2009. 116(1): p. 131-43.

32. Arsenic R, Lehmann A, Budczies J, Koch I, Prinzler J, Kleine-Tebbe A, Schewe C, Loibl S, Dietel M, and Denkert C. *Analysis of PIK3CA mutations in breast cancer subtypes*. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2014. 22(1): p. 50-6.
33. Loibl S, von Minckwitz G, Schneeweiss A, Paepke S, Lehmann A, Rezai M, Zahm DM, Sinn P, Khandan F, Eidtmann H, Dohnal K, Heinrichs C, Huober J, Pfitzner B, Fasching PA, Andre F, Lindner JL, Sotiriou C, Dykgers A, Guo S, Gade S, Nekljudova V, Loi S, Untch M, and Denkert C. *PIK3CA mutations are associated with lower rates of pathologic complete response to anti-human epidermal growth factor receptor 2 (her2) therapy in primary HER2-overexpressing breast cancer*. J Clin Oncol, 2014. 32(29): p. 3212-20.
34. Lazar AA, Cole BF, Bonetti M, and Gelber RD. *Evaluation of treatment-effect heterogeneity using biomarkers measured on a continuous scale: subpopulation treatment effect pattern plot*. J Clin Oncol, 2010. 28(29): p. 4539-44.
35. Romond EH, Perez EA, Bryant J, Suman VJ, Geyer CE, Jr., Davidson NE, Tan-Chiu E, Martino S, Paik S, Kaufman PA, Swain SM, Pisansky TM, Fehrenbacher L, Kutteh LA, Vogel VG, Visscher DW, Yothers G, Jenkins RB, Brown AM, Dakhil SR, Mamounas EP, Lingle WL, Klein PM, Ingle JN, and Wolmark N. *Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer*. N Engl J Med, 2005. 353(16): p. 1673-84.
36. Liu P, Cheng H, Roberts TM, and Zhao JJ. *Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer*. Nat Rev Drug Discov, 2009. 8(8): p. 627-44.
37. Berns K, Horlings HM, Hennessy BT, Madiredjo M, Hijmans EM, Beelen K, Linn SC, Gonzalez-Angulo AM, Stemke-Hale K, Hauptmann M, Beijersbergen RL, Mills GB, van de Vijver MJ, and Bernards R. *A functional genetic approach identifies the PI3K pathway as a major determinant of trastuzumab resistance in breast cancer*. Cancer Cell, 2007. 12(4): p. 395-402.
38. Sage H, Johnson C, and Bornstein P. *Characterization of a novel serum albumin-binding glycoprotein secreted by endothelial cells in culture*. J Biol Chem, 1984. 259(6): p. 3993-4007.
39. Desai NP, Trieu V, Hwang LY, Wu R, Soon-Shiong P, and Gradishar WJ. *Improved effectiveness of nanoparticle albumin-bound (nab) paclitaxel versus polysorbate-based docetaxel in multiple xenografts as a function of HER2 and SPARC status*. Anticancer Drugs, 2008. 19(9): p. 899-909.
40. Gradishar WJ, Tjulandin S, Davidson N, Shaw H, Desai N, Bhar P, Hawkins M, and O'Shaughnessy J. *Phase III trial of nanoparticle albumin-bound paclitaxel compared with polyethylated castor oil-based paclitaxel in women with breast cancer*. J Clin Oncol, 2005. 23(31): p. 7794-803.
41. Von Hoff DD, Ramanathan RK, Borad MJ, Laheru DA, Smith LS, Wood TE, Korn RL, Desai N, Trieu V, Iglesias JL, Zhang H, Soon-Shiong P, Shi T, Rajeshkumar NV, Maitra A, and Hidalgo M. *Gemcitabine plus nab-paclitaxel is an active regimen in patients with advanced pancreatic cancer: a phase I/II trial*. J Clin Oncol, 2011. 29(34): p. 4548-54.
42. Von Hoff DD, Ervin T, Arena FP, Chiorean EG, Infante J, Moore M, Seay T, Tjulandin SA, Ma WW, Saleh MN, Harris M, Reni M, Dowden S, Laheru D, Bahary N, Ramanathan RK, Tabernero J, Hidalgo M, Goldstein D, Van Cutsem E, Wei X, Iglesias J, and Renschler MF. *Increased survival in pancreatic cancer with nab-paclitaxel plus gemcitabine*. N Engl J Med, 2013. 369(18): p. 1691-703.
43. Untch M, Jackisch C, Schneeweiss A, Conrad B, Aktas B, Denkert C, Eidtmann H, Wiebringhaus H, Kümmel S, Hilfrich J, Warm M, Paepke S, Just M, Hanusch C, Hackmann J, Blohmer J-U, Clemens M, Costa SD, Gerber B, Nekljudova V, Loibl S, and von Minckwitz G. *Abstract S2-07: A randomized phase III trial comparing neoadjuvant chemotherapy with weekly nanoparticle-based paclitaxel with solvent-based paclitaxel followed by anthracycline/cyclophosphamide for patients with early breast cancer (GeparSepto); GBG 69*. Cancer Research, 2015. 75(9 Supplement): p. S2-07.
44. Hidalgo M, Plaza C, Musteanu M, Illei P, Brachmann CB, Heise C, Pierce D, Lopez-Casas PP, Menendez C, Tabernero J, Romano A, Wei X, Lopez-Rios F, and Von Hoff DD. *SPARC Expression Did Not Predict Efficacy of nab-Paclitaxel plus Gemcitabine or Gemcitabine Alone for Metastatic Pancreatic Cancer in an Exploratory Analysis of the Phase III MPACT Trial*. Clin Cancer Res, 2015. 21(21): p. 4811-8.
45. Schneeweiss A, Seitz J, Smetanay K, Schuetz F, Jaeger D, Bachinger A, Zorn M, Sinn HP, and Marme F. *Efficacy of nab-paclitaxel does not seem to be associated with SPARC expression in metastatic breast cancer*. Anticancer Res, 2014. 34(11): p. 6609-15.
46. Majewski IJ, Nuciforo P, Mittempergher L, Bosma AJ, Eidtmann H, Holmes E, Sotiriou C, Fumagalli D, Jimenez J, Aura C, Prudkin L, Diaz-Delgado MC, de la Pena L, Loi S, Ellis C, Schultz N, de Azambuja E, Harbeck N, Piccart-Gebhart M, Bernards R, and Baselga J. *PIK3CA mutations are associated with decreased benefit to neoadjuvant human epidermal growth factor receptor 2-targeted therapies in breast cancer*. J Clin Oncol, 2015. 33(12): p. 1334-9.

Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Judith Lindner, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Molekulare Marker zur Prädiktion des Ansprechens auf neoadjuvante Therapie beim Mammakarzinom“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an den ausgewählten Publikationen entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen

Judith Lindner (geb. Prinzler) hat folgenden Anteil an den genannten Publikationen:

Publikation 1: Lindner JL, Loibl S, Denkert C, Ataseven B, Fasching PA, Pfitzner BM, Gerber B, Gade S, Darb-Esfahani S, Sinn BV, Huober J, Engels K, Tesch H, Karn T, Pommerenke F, Liedtke C, Untch M, Müller V, Rack B, Schem C, and von Minckwitz G. Expression of secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) in breast cancer and response to neoadjuvant chemotherapy. Ann Oncol, 2015. 26(1): p. 95-100.

Impact Factor: 7,040

Anteil: 70% - Planung, Etablierung und Durchführung der Versuche, Beteiligung an der Auswertung der immunhistochemischen Färbungen, Datenauswertung, Statistik und Interpretation, Erstellung der Abbildungen und Verfassen des Manuskripts.

Publikation 2: Sinn M, Sinn BV, Striefler JK, Lindner JL, Stieler JM, Lohneis P, Bischoff S, Blaker H, Pelzer U, Bahra M, Dietel M, Dorken B, Oettle H, Riess H, and Denkert C. SPARC expression in resected pancreatic cancer patients treated with gemcitabine: results from the CONKO-001 study. Ann Oncol, 2014. 25(5): p. 1025-32.

Impact Factor: 7,040

Anteil: 15 % - Mitarbeit an der Etablierung der Methode und Auswertung der Daten, Mitarbeit am Manuskript

Publikation 3: Denkert C, Huober J, Loibl S, Prinzler J, Kronenwett R, Darb-Esfahani S, Brase JC, Solbach C, Mehta K, Fasching PA, Sinn BV, Engels K, Reinisch M, Hansmann ML, Tesch H, von Minckwitz G, and Untch M. HER2 and ESR1 mRNA expression levels and response to neoadjuvant trastuzumab plus chemotherapy in patients with primary breast cancer. Breast Cancer Res, 2013. 15(1): p. R11.

Impact Factor: 5,490

Anteil: 20 % - Durchführung der Messungen und Beteiligung an der Datenanalyse, Mitarbeit am Manuskript

Publikation 4: Loibl S, von Minckwitz G, Schneeweiss A, Paepke S, Lehmann A, Rezai M, Zahm DM, Sinn P, Khandan F, Eidtmann H, Dohnal K, Heinrichs C, Huober J, Pfitzner B, Fasching PA, Andre F, Lindner JL, Sotiriou C, Dykgers A, Guo S, Gade S, Nekljudova V, Loi S, Untch M, and Denkert C. *PIK3CA Mutations Are Associated With Lower Rates of Pathologic Complete Response to Anti-Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) Therapy in Primary HER2-Overexpressing Breast Cancer.*

J Clin Oncol, 2014.

Impact Factor: 18,428

Anteil: 10 % - Beteiligung an der Planung, Etablierung und Durchführung der Versuche, Mitarbeit am Manuskript

Judith Lindner

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Publikationsliste

1. Lindner JL, Loibl S, Denkert C, Ataseven B, Fasching PA, Pfitzner BM, Gerber B, Gade S, Darb-Esfahani S, Sinn BV, Huober J, Engels K, Tesch H, Karn T, Pommerenke F, Liedtke C, Untch M, Müller V, Rack B, Schem C, and von Minckwitz G. Expression of secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) in breast cancer and response to neoadjuvant chemotherapy. *Ann Oncol*, 2015. 26(1): p. 95-100.
2. Sinn M, Sinn BV, Striefler JK, Lindner JL, Stieler JM, Lohneis P, Bischoff S, Blaker H, Pelzer U, Bahra M, Dietel M, Dorken B, Oettle H, Riess H, and Denkert C. SPARC expression in resected pancreatic cancer patients treated with gemcitabine: results from the CONKO-001 study. *Ann Oncol*, 2014. 25(5): p. 1025-32.
3. Loibl S, von Minckwitz G, Schneeweiss A, Paepke S, Lehmann A, Rezai M, Zahm DM, Sinn P, Khandan F, Eidtmann H, Dohnal K, Heinrichs C, Huober J, Pfitzner B, Fasching PA, Andre F, Lindner JL, Sotiriou C, Dykgers A, Guo S, Gade S, Nekljudova V, Loi S, Untch M, and Denkert C. PIK3CA Mutations Are Associated With Lower Rates of Pathologic Complete Response to Anti-Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) Therapy in Primary HER2-Overexpressing Breast Cancer. *J Clin Oncol*, 2014.
4. Arsenic R, Lehmann A, Budczies J, Koch I, Prinzler J, Kleine-Tebbe A, Schewe C, Loibl S, Dietel M, and Denkert C. Analysis of PIK3CA mutations in breast cancer subtypes. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2014. 22(1): p. 50-6.
5. Denkert C, Huober J, Loibl S, Prinzler J, Kronenwett R, Darb-Esfahani S, Brase JC, Solbach C, Mehta K, Fasching PA, Sinn BV, Engels K, Reinisch M, Hansmann ML, Tesch H, von Minckwitz G, and Untch M. HER2 and ESR1 mRNA expression levels and response to neoadjuvant trastuzumab plus chemotherapy in patients with primary breast cancer. *Breast Cancer Res*, 2013. 15(1): p. R11.

6. Müller BM, Keil E, Lehmann A, Winzer KJ, Richter-Ehrenstein C, Prinzler J, Bangemann N, Reles A, Stadie S, Schoenegg W, Eucker J, Schmidt M, Lippek F, Jöhrens K, Pahl S, Sinn BV, Budczies J, Dietel M, and Denkert C. The EndoPredict Gene-Expression Assay in Clinical Practice - Performance and Impact on Clinical Decisions. PLoS One, 2013. 8(6): p. e68252.
7. Müller BM, Jana L, Kasajima A, Lehmann A, Prinzler J, Budczies J, Winzer KJ, Dietel M, Weichert W, and Denkert C. Differential expression of histone deacetylases HDAC1, 2 and 3 in human breast cancer - overexpression of HDAC2 and HDAC3 is associated with clinicopathological indicators of disease progression. BMC Cancer, 2013. 13: p. 215.
8. Liebscher CA, Prinzler J, Sinn BV, Budczies J, Denkert C, Noske A, Sehouli J, Braicu EI, Dietel M, and Darb-Esfahani S. Aldehyde dehydrogenase 1/epidermal growth factor receptor coexpression is characteristic of a highly aggressive, poor-prognosis subgroup of high-grade serous ovarian carcinoma. Hum Pathol, 2013. 44(8): p. 1465-71.
9. Denkert C, Loibl S, Müller BM, Eidtmann H, Schmitt WD, Eiermann W, Gerber B, Tesch H, Hilfrich J, Huober J, Fehm T, Barinoff J, Jackisch C, Prinzler J, Rudiger T, Erbstosser E, Blohmer JU, Budczies J, Mehta KM, and von Minckwitz G. Ki67 levels as predictive and prognostic parameters in pretherapeutic breast cancer core biopsies: a translational investigation in the neoadjuvant GeparTrio trial. Ann Oncol, 2013. 24(11): p. 2786-93.
10. Müller BM, Brase JC, Haufe F, Weber KE, Budzies J, Petry C, Prinzler J, Kronenwett R, Dietel M, and Denkert C. Comparison of the RNA-based EndoPredict multigene test between core biopsies and corresponding surgical breast cancer sections. J Clin Pathol, 2012. 65(7): p. 660-2.
11. Kronenwett R, Bohmann K, Prinzler J, Sinn BV, Haufe F, Roth C, Averdick M, Ropers T, Windbergs C, Brase JC, Weber KE, Fisch K, Müller BM, Schmidt M, Filipits M, Dubsky P, Petry C, Dietel M, and Denkert C. Decentral gene expression analysis: analytical validation of the EndoPredict genomic multianalyte breast cancer prognosis test. BMC Cancer, 2012. 12: p. 456.

12. Klauke ML, Hoogerbrugge N, Budczies J, Bult P, Prinzler J, Radke C, van Krieken JH, Dietel M, Denkert C, and Müller BM. Higher cytoplasmic and nuclear poly(ADP-ribose) polymerase expression in familial than in sporadic breast cancer. *Virchows Arch*, 2012. 461(4): p. 425-31.
13. Denkert C, Kronenwett R, Schlake W, Bohmann K, Penzel R, Weber KE, Hofler H, Lehmann U, Schirmacher P, Specht K, Rudas M, Kreipe HH, Schraml P, Schlake G, Bago-Horvath Z, Tiecke F, Varga Z, Moch H, Schmidt M, Prinzler J, Kerjaschki D, Sinn BV, Müller BM, Filipits M, Petry C, and Dietel M. Decentral gene expression analysis for ER+/Her2- breast cancer: results of a proficiency testing program for the EndoPredict assay. *Virchows Arch*, 2012. 460(3): p. 251-9.
14. Brockmüller SF, Bucher E, Müller BM, Budczies J, Hilvo M, Griffin JL, Oresic M, Kallioniemi O, Iljin K, Loibl S, Darb-Esfahani S, Sinn BV, Klauschen F, Prinzler J, Bangemann N, Ismaeel F, Fiehn O, Dietel M, and Denkert C. Integration of metabolomics and expression of glycerol-3-phosphate acyltransferase (GPAM) in breast cancer-link to patient survival, hormone receptor status, and metabolic profiling. *J Proteome Res*, 2012. 11(2): p. 850-60.

Buchbeitrag

Denkert C, and Prinzler J, *Das Glykoprotein SPARC als neuer potentieller prognostischer und prädiktiver Biomarker*, in *Nanotechnologie beim Mammakarzinom - Grundlagen und aktuelle Perspektiven*

J. Bischoff, Editor. 2013, UNI-MED: Bremen

Kongressbeiträge

Vortrag

97. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e.V. (2013; Heidelberg)
Prinzler J, Untch M, Fasching P, Müller BM, Gade S, Meinhold-Heerlein I, Huober J, Karn T, Liedtke C, Loibl S, Müller V, Rack B, Schem C, Darb-Esfahani S, Dietel M, Denkert C, von Minckwitz G; SPARC expression and its predictive value in human breast cancer samples of the neoadjuvant GeparTrio trial.

Poster

95. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e.V. (2011; Leipzig)
Prinzler J, Sinn BV, Darb-Esfahani S, Budczies J, Sehouli J, Breicu E, Dietel M, Denkert C; MicroRNAs are differentially expressed in ovarian carcinoma tumor samples and correlate with tumor-related biomarkers and patients' survival rates.

Danksagung

Als erstes möchte ich Prof. Dr. Carsten Denkert für die engagierte Betreuung bedanken. Seine fachliche Unterstützung und konstruktive Kritik hat wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Ein großes Dankeschön gilt der gesamten Arbeitsgruppe für Translationale Tumorforschung für ihre Unterstützung, die anregenden Diskussionen und das angenehme Arbeitsumfeld. Besonders möchte ich mich bei Ines Koch, Petra Wachs, Britta Beyer und Sylwia Handzik für die technische Unterstützung im Labor bedanken. Bruno Sinn, Berit Pfitzner, Wolfgang Schmitt, Silvia Darb-Esfahani und Jan Budczies haben mir stets mit fachlicher Expertise zur Seite gestanden.

Prof. Dr. Sybille Loibl und Prof. Dr. Gunter von Minckwitz, sowie dem gesamten Team der German Breast Group danke ich für die Möglichkeit an so umfangreichem und gut strukturiertem Studienmaterial forschen zu dürfen.

Meinen lieben Kolleginnen Maria Joosten, Iris Klempert, Catarina Kunze danke ich für die anregenden Gespräche wissenschaftlicher und privater Natur. Besonderer Dank gilt meiner Familie, meinen Eltern und meinem Bruder, die mich stets dabei unterstützen, meine Ziele zu verwirklichen. Meinem Mann und meiner Tochter danke ich für ihren Rückhalt und ihre Liebe.

Anlage: Drucke der ausgewählten Publikationen

Publikation 1: Lindner JL, Loibl S, Denkert C, Ataseven B, Fasching PA, Pfitzner BM, Gerber B, Gade S, Darb-Esfahani S, Sinn BV, Huober J, Engels K, Tesch H, Karn T, Pommerenke F, Liedtke C, Untch M, Müller V, Rack B, Schem C, and von Minckwitz G. *Expression of secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) in breast cancer and response to neoadjuvant chemotherapy.* Ann Oncol, 2015. 26(1): p. 95-100.

DOI: [10.1093/annonc/mdu487](https://doi.org/10.1093/annonc/mdu487)

Publikation 2: Sinn M, Sinn BV, Striefler JK, Lindner JL, Stieler JM, Lohneis P, Bischoff S, Blaker H, Pelzer U, Bahra M, Dietel M, Dorken B, Oettle H, Riess H, and Denkert C. *SPARC expression in resected pancreatic cancer patients treated with gemcitabine: results from the CONKO-001 study.* Ann Oncol, 2014. 25(5): p. 1025-32.

DOI: [10.1093/annonc/mdw269](https://doi.org/10.1093/annonc/mdw269)

Publikation 3: Denkert C, Huober J, Loibl S, Prinzler J, Kronenwett R, Darb-Esfahani S, Brase JC, Solbach C, Mehta K, Fasching PA, Sinn BV, Engels K, Reinisch M, Hansmann ML, Tesch H, von Minckwitz G, and Untch M. *HER2 and ESR1 mRNA expression levels and response to neoadjuvant trastuzumab plus chemotherapy in patients with primary breast cancer.* Breast Cancer Res, 2013. 15(1): p. R11.

DOI: [10.1186/bcr3384](https://doi.org/10.1186/bcr3384)

Publikation 4: Loibl S, von Minckwitz G, Schneeweiss A, Paepke S, Lehmann A, Rezai M, Zahm DM, Sinn P, Khandan F, Eidtmann H, Dohnal K, Heinrichs C, Huober J, Pfitzner B, Fasching PA, Andre F, Lindner JL, Sotiriou C, Dykgers A, Guo S, Gade S, Nekljudova V, Loi S, Untch M, and Denkert C. *PIK3CA Mutations Are Associated With Lower Rates of Pathologic Complete Response to Anti-Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) Therapy in Primary HER2-Overexpressing Breast Cancer.* J Clin Oncol, 2014.

DOI: [10.1200/JCO.2014.55.7876](https://doi.org/10.1200/JCO.2014.55.7876)