

Vergleich von HER2-, Östrogen- und Progesteron Rezeptor-Profilen bei Patienten mit primärem Mammakarzinom und synchroner axillärer Lymphknotenmetastase

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Dr. med.

an der Medizinischen Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von:
Laura Christina Weydandt

geb. am 30.04.1990 in Essen

angefertigt an:
der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde des Universitätsklinikums Leipzig

Betreuerin: Prof. Dr. med. Bahriye Aktas

Beschluss über die Verleihung des Doktorgrades vom: 24.01.2023

*Für Prof. Dr. Bahriye Aktas -
die immer ein Stück mehr an mich glaubt, als ich es selber tue.*

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	3
1. Einführung in die Thematik	4
1.1 Historie des Mammakarzinoms	4
1.2 Epidemiologie.....	5
1.3 Diagnostik	6
1.3.1 Diagnostische Sicherung	6
1.3.2 Östrogen und Progesteron-Rezeptorstatus und Grenzwerte 1% vs. 10%	6
1.3.3 HER2-Rezeptorstatus.....	7
1.3.4 Ki67-Bestimmung	7
1.4 Einteilungsformen	8
1.4.1 TNM-Klassifikation.....	8
1.4.2 Intrinsische Subtypen	9
1.5 Therapieformen.....	10
1.5.1 Operative Therapie.....	10
1.5.2 Axilläres Management	11
1.5.3 Neoadjuvante systemische Therapie	12
1.5.4 Neoadjuvant endokrine Therapie.....	12
1.6 Rezeptoränderungen.....	12
1.6.1 Daten aus der metastasierten Situation	12
1.6.2 Fragestellung.....	13
2. Publikation.....	14
3. Zusammenfassung der Arbeit.....	28
3.1 Fragestellung	28
3.2 Patienten und Methoden	29
3.3 Ergebnisse.....	30
3.3.1 Patientenkollektiv.....	30
3.3.2 Anwendung der unterschiedlichen Grenzwerte ($\geq 1\%$ vs. $\geq 10\%$).....	30
3.3.3 Änderungsraten	31
3.3.4 Rezeptorverluste und -zugewinne	31
3.3.5 Analyse der intrinsischen Subtypen	31
3.3.6 Korrelationsanalyse	31
3.4 Schlussfolgerung	32
4. Literaturverzeichnis	34
5. Anhang.....	38

5.1 Darstellung des eigenen Beitrags	38
5.2 Erklärung über den wissenschaftlichen Beitrag der Promovendin	39
5.3 Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit.....	40
5.4 Lebenslauf	41
5.5 Verzeichnis der wissenschaftlichen Veröffentlichungen und Vorträge	42
5.6 Danksagung.....	45

Abkürzungsverzeichnis

AJCC – American Joint Commission on Cancer

ALND – Axilläre Lymphknotendissektion

ASCO – American Society of Clinical Oncology

BET – Brusterhaltende Therapie

Ca – Karzinom

CAP – College of American Pathologists

CISH – Chromogene in situ-Hybridisierung

CNB – Stanzbiopsie

t-CNB – Stanzbiopsie des Primärtumors

ER – Östrogen

FFPE – Formalin-fixiertes-Paraffin-eingebettetes-Gewebe

FISH – Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung

HER2 – Human epidermal growth factor 2

HR – Hormonrezeptor

IHC – Immunhistochemie

IQR – Interquartilsabstand

LNM – Lymphknotenmetastase

mRNA – Boten - Ribonukleinsäure

NACT – Neoadjuvante Chemotherapie

NST – Nicht-spezifische-Typ

PR – Progesteron

pCR – Pathologische Komplettremission

SLNB – Sentinellymphknotenbiopsie

1. Einführung in die Thematik

1.1 Historie des Mammakarzinoms

Die ersten Aufzeichnungen des Mammakarzinoms reichen bis 1600 v. Chr. zurück, wo auf einer ägyptischen Schriftrolle 8 Fälle eines wachsenden oder ulzerierenden Tumors der Brust beschrieben wurde [1]. Es gibt jedoch Theorien, dass es sich bei dem Schriftstück lediglich um eine Kopie handelt und die ursprünglichen Aufzeichnungen sogar bis ins Jahr 2500-3000 v. Chr. zurückreichen [2].

Die vom griechischen Arzt und Philosoph Hippokrates von Kos (460-370 v.Chr.) entwickelte Theorie der vier Körperflüssigkeiten und deren Ungleichgewicht bei der Entstehung von Krankheiten wurde ebenfalls für die Entstehung des Mammakarzinoms übernommen. Viele tausend Jahre hielt sich die Theorie, wonach ein Überschuss von schwarzer Galle im Blut für die Entstehung des Mammakarzinoms verantwortlich gemacht wurde [3, 4]. Erst im Zeitalter der Renaissance verwarf man diese Theorie und sah die Lymphknoten als Ursprung der Mammakarzinom-Erkrankung an [5].

Die Anfänge der Therapie des Mammakarzinoms konzentrierten sich auf die alleinige operative Therapie. Jedoch sollte es bis ins 19. Jahrhundert dauern, bis auf dem Gebiet der operativen Therapie mit der Entwicklung der Narkose und des Desinfektionsmittels bahnbrechende Fortschritte erzielt werden konnten. 1894 entwickelte der Chirurg William Halsted ein radikales Mastektomie-Verfahren bei dem die Brust en bloc, zusammen mit dem Musculus pectoralis major sowie den axillären Lymphknoten und Lymphgefäßen, entfernt wurde. Dieses Verfahren sollte für viele Jahre der Standard der operativen Therapie des Mammakarzinoms bleiben [4].

Im 20. Jahrhundert gab es dann eine rasche Entwicklung auf dem Gebiet der Therapie des Mammakarzinoms. Die operative Therapie hatte ihre Grenzen erreicht und konnte nicht in allen Fällen eine Heilung erzielen, so dass nach Alternativen gesucht wurde.

Bereits 1932 fand die Strahlentherapie ihren Einzug, als Sir Geoffrey Langdon Keynes mit Radium als alleinige Therapieform bei Patientinnen mit Mammakarzinom experimentierte [6].

Zudem gab es bereits frühzeitig Vermutungen, dass es einen Zusammenhang zwischen dem Östrogeneinfluss und dem Auftreten eines Mammakarzinoms gibt. Dies wurde 1967 von Elwood Jensen und seiner Identifikation des Östrogenrezeptors auf Mammakarzinomzellen bestätigt [7]. Die Erkenntnisse bezüglich des Östrogen- und Progesteronrezeptors in den siebziger Jahren, stellte die Entdeckung der ersten molekularen Marker in der Geschichte des Mammakarzinoms dar und legten den Grundstein für eine endokrin-basierte Therapie.

Zur selben Zeit erforschte man erstmals zytotoxische Substanzen bei Patientinnen mit metastasiertem Mammakarzinom. Anfang der siebziger Jahre begannen Bernard Fisher und Gianni Bonadonna eine Kombination von Chemotherapien in der adjuvanten Situation zu verabreichen. Die 5-Jahres Ergebnisse der Bonadonna Studie zeigten eine deutliche Verbesserung des Gesamtüberlebens in der Gruppe der Patientinnen die eine Cyclophosphamid, Methotrexat und Fluorouracil (CMF) kombinierte Chemotherapie im Anschluss an eine Mastektomie im Gegensatz zur Gruppe der Patientinnen die eine alleinige operative Therapie erhielten [8]. Die Therapie des Mammakarzinoms entwickelte sich so immer mehr zu einem multimodalen Therapiekonzept.

1.2 Epidemiologie

Mit 24,2% ist das Mammakarzinom Schätzungen zu folge die häufigste Krebserkrankung der Frau weltweit [9]. Bei jeder vierten Krebserkrankung der Frau handelt es sich somit um eine Mammakarzinom-Erkrankung. Im Jahr 2018 kam es dabei zu etwa 2,1 Millionen Neuerkrankungen. Die Mammakarzinom-Erkrankung ist hiermit die führende Diagnose aller Krebsneuerkrankungen der Frau in 154 von 185 Ländern [9].

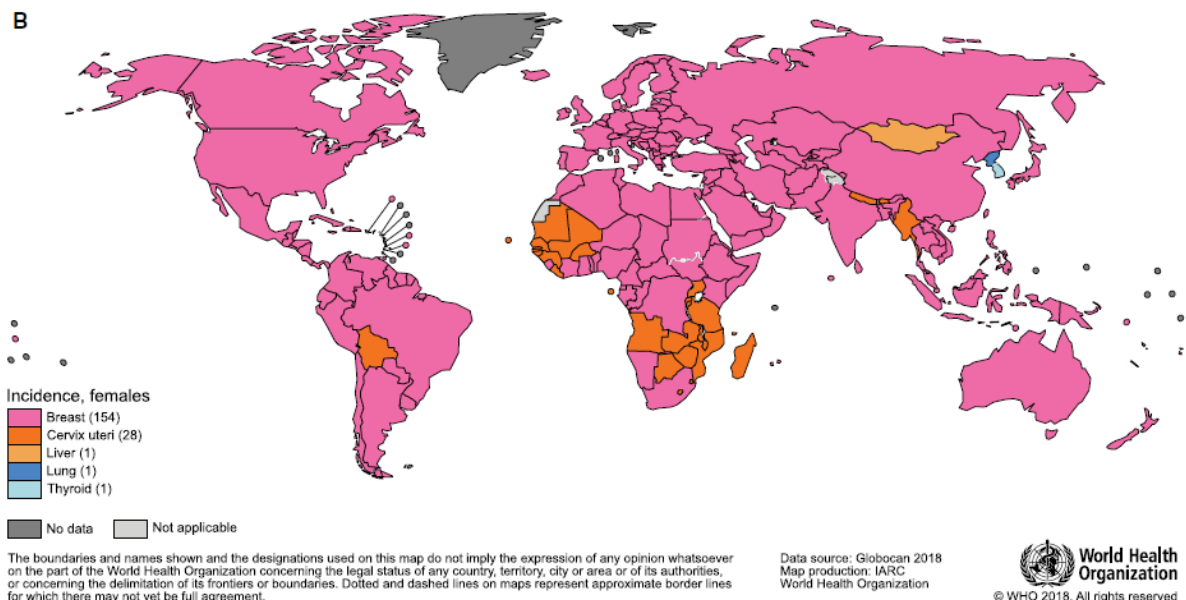


Abbildung 1: Inzidenzraten der häufigsten Krebserkrankungen der Frau weltweit im Jahre 2018. [9]

Dabei ist es in den meisten Ländern zu einem kontinuierlichen Anstieg der Inzidenzraten in den letzten Jahrzehnten gekommen [10]. Hierbei ist das Mammakarzinom mit 15% auch die häufigste Todesursache aller Krebserkrankungen der Frau weltweit [9].

Auch in Deutschland führt das Mammakarzinom mit zuletzt 69.000 Neuerkrankungen jährlich, die Rate der Krebsneuerkrankungen der Frau an [11]. Dabei erhält Schätzungen zufolge, eine von acht Frauen im Laufe ihres Lebens die Diagnose einer Mammakarzinom-Erkrankung [11].

1.3 Diagnostik

1.3.1 Diagnostische Sicherung

Ziel der diagnostischen Sicherung ist die Gewinnung von Gewebematerial zur Festlegung der endgültigen Diagnose. Diese kann mittels Feinnadelpunktion, Stanzbiopsie (CNB), stereotaktischer Vakuumbiopsie oder offener Exzisionsbiopsie erfolgen. Die Art der Sicherung sollte dabei in Abhängigkeit von der Lokalisation des Befundes und unter Berücksichtigung der diagnostischen Sicherheit und des Nebenwirkungsrisikos erfolgen [12].

Das sehr häufig angewandte Verfahren der Stanzbiopsie (CNB) erfolgt dabei in der Regel in örtlicher Betäubung unter sonographischer Sicht. Hierbei wird mithilfe eines Stanzbiopsie-Systems (Gerät und Nadel, dessen Durchmesser variieren kann) unter Hochgeschwindigkeit eine Probe der Zielläsion entnommen. In Abhängigkeit des Durchmessers des entnommenen Stanzzylinders sollten bei einer 14-Gauge Nadel mindestens drei Stanzzylinder zur Diagnosesicherung entnommen werden [13].

Im Anschluss erfolgt eine Fixierung des Gewebes in Formalin und Einbettung in Paraffinblöcken. Die optimale Fixationszeit für Stanzbiopsien wird zwischen 6 und 72 Stunden angegeben. Hierbei sollte die Fixationszeit von mindestens sechs Stunden nicht unterschritten werden, um eine optimale Antigenerhaltung zu gewährleisten [14].

Anhand anschließend angefertigter sehr dünner Gewebsschnitte, die auf Glasobjektträgern fixiert werden, erfolgt die mikroskopische Beurteilung der Gewebspräparate.

1.3.2 Östrogen und Progesteron-Rezeptorstatus und Grenzwerte 1% vs. 10%

An den fixierten Gewebspräparaten auf Glasobjektträgern erfolgt die immunhistochemische Bestimmung des ER- und PR-Rezeptors. Hierbei erfolgt der Nachweis bzw. die immunhistochemische Färbung unter Verwendung spezifischer Antikörper die mit Farbstoff markiert werden [15]. Die Expression des jeweiligen Rezeptors kann nach erfolgter Antigen-/Antikörper-Reaktionen farblich dargestellt werden. Um die Testung möglichst einheitlich und akkurat zu gestalten, erfolgt diese anhand der international gültigen amerikanischen ASCO / CAP Richtlinie [16, 17]. Dabei erfolgt die Angabe positiver Tumorzellkerne in Prozentangaben,

zudem sollte die durchschnittliche Färbeintensität der Zellkerne mit angegeben werden. Ergänzend können noch andere Einteilungen wie zum Beispiel die Klassifizierung nach Remmele und Stegner [18] mit angegeben werden.

In der Vergangenheit wurden immer wieder unterschiedliche Grenzwerte bezüglich des ER- und PR-Rezeptors diskutiert. Tumore werden generell als ER und/oder PR positiv klassifiziert, wenn zwischen 1% und 100% positive Tumorzellkerne nachgewiesen werden [19]. Im Falle eines positiven ER- und/oder PR-Rezeptors können diese mit einer endokrinen Therapie behandelt werden. Eine Sonderstellung scheint die Gruppe der Tumore mit positiven Tumorzellen zwischen 1-9% einzunehmen. In Studien konnte gezeigt werden, dass diese Gruppe der sogenannten ER-/und oder PR „schwach positiven“ Tumore schlechter auf eine endokrine Therapie ansprechen und sich in ihrem biologischen Verhalten eher den Rezeptor negativen Tumoren („Triple negativ“) ähneln [20].

1.3.3 HER2-Rezeptorstatus

Die Testung des Wachstumsfaktorrezeptors HER2 erfolgt ebenfalls immunhistochemisch anhand eines spezifischen, farbstoff-markierten Antikörpers. Die Auswertung erfolgt anhand der international gültigen, amerikanischen ASCO / CAP Richtlinie für HER2 [21]. Dabei wird der HER2-Status zwischen 0 und 3+ klassifiziert. Bei einem Ergebnis von 0 und 1+ liegt keine oder lediglich eine inkomplette, schwache Membranfärbung vor und der Rezeptor wird als negativ bewertet. Liegt eine schwache bis mäßige Membranfärbung in über zehn Prozent der Zellen vor, oder eine starke Färbung in unter zehn Prozent der Zellen, ist der HER2-Status zweifelhaft und wird mit 2+ klassifiziert. In diesen Fällen sollte eine Genamplifikation mittels FISH oder CISH erfolgen [21], um eine endgültige Klassifizierung des Rezeptors vornehmen zu können. Zeigen mehr als zehn Prozent der Zellen eine gleichmäßige starke Membranfärbung wird eine 3+ vergeben und der HER2-Status als positiv angesehen.

Bei positivem Nachweis des HER2-Status kann eine kombinierte antikörper-basierte Chemotherapie mit Trastuzumab und Pertuzumab erfolgen. Hierbei handelt es sich um eine zielgerichtete Therapie, wie auch bei der endokrinen Therapie. Die Rezeptoren stellen hierbei sowohl prognostische, als auch prädiktive Faktoren dar.

1.3.4 Ki67-Bestimmung

Analog zur ER, PR und HER2-Testung erfolgt die immunhistochemische Bestimmung des Proliferationsmarkers Ki67 anhand spezifischer, farbstoff-markierter Antikörper. Die Angabe

positiver Tumorzellen erfolgt ebenfalls in Prozent. Dabei kann die Auswertung anhand einer subjektiven Schätzung positiver Tumorzellkerne oder anhand einer Zählung positiver Tumorzellkerne in einzelnen Bildabschnitten erfolgen [22]. Angesichts der sehr heterogenen Methodik, gibt es keine international gültige, standardisierte Richtlinie für die Auswertung von Ki67. Im Zuge dieser fehlenden Standardisierung konnte in Studien sowohl eine erhöhte Variabilität zwischen den Untersuchern („Interobserver-Variabilität), als auch eine Variabilität zwischen den unterschiedlichen Untersuchungslaboren („Interlaboratory-Variabilität“) bei der Bestimmung von Ki67 beobachtet werden [23]. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass die Reproduzierbarkeit anhand systematischer Trainings und mithilfe einheitlicher Kriterien signifikant verbessert werden konnte [12, 24].

Die Festlegung unterschiedlicher Grenzwerte für Ki67 unterlag bislang einem ständigen Wandel. Aktuelle Studiengruppen empfehlen, dass ein Ki67 Wert von <5% oder >30% für eine Einschätzung der Prognose herangezogen werden kann [25]. Dabei kann ein hoher Ki67 Wert als möglicher Indikator für eine adjuvante Chemotherapie dienen.

1.4 Einteilungsformen

1.4.1 TNM-Klassifikation

Die Klassifikation des Mammakarzinoms erfolgt anhand der für Malignome international gängigen TNM-Klassifikation. Dabei erfolgt die Einteilung anhand der Tumorgroße (T), der befallenen Lymphknoten (N) und des Vorliegens einer möglichen Metastasierung (M) [26].

T	Primärtumorgroße
x	Tumor nicht beurteilbar
0	Kein Tumor nachweisbar
is	Carcinoma in situ
1	≤2 cm
1mic	Mikroinvasion ≤0,1 cm
1a	≤0,5 cm
1b	>0,5 cm und ≤1 cm
1c	>1 cm und ≤2 cm
2	>2 cm und ≤5 cm
3	>5 cm
4	Infiltration der Brustwand oder Haut
4a	Infiltration der Brustwand

4b	Ödem oder Ulzerationen der Haut, Haut-Satelliten-Metastasen
4c	4a + 4b
4d	Inflammatorisches Mammakarzinom
N	Befallene Lymphknoten
x	Lymphknoten nicht beurteilbar
1	Keine befallenen Lymphknoten
2	Befall fixierter, axillärer Lymphknoten der Level I-II, oder isolierter Befall von Lymphknoten der A. mammaria interna
2a	Befallene fixierte, axilläre Lymphknoten der Level I-II
2b	Befallene Lymphknoten der A. mammaria interna
3	Befall supra- oder infraklavikulärer Lymphknoten der Level III, und Befall von axillären und A. mammaria interna Lymphknoten
3a	Infraklavikuläre Lymphknoten der Level III
3b	Axilläre und Lymphknoten der A. mammaria interna
3c	Supraklavikuläre Lymphknoten der Level III
M	Metastasierung
0	Keine Fernmetastasen
1	Fernmetastasen

Tabelle 1: Einteilung des Mammakarzinoms anhand der TNM-Klassifikation [26]

1.4.2 Intrinsische Subtypen

Anhand der immunhistochemischen Bestimmung des ER-, PR- und HER2-Rezeptorprofils des Primärtumors, sowie des Proliferationsmarkers Ki-67 kann eine weitere risikostratifizierte Einteilung in intrinsische Subtypen erfolgen. Diese basiert ursprünglich auf der Bestimmung von Genexpressionssignaturen und mRNA-Expressionsprofilen. Es hat sich jedoch im klinischen Alltag die Einteilung in intrinsische Subtypen anhand des Konsensus von St. Gallen aus dem Jahr 2013 etabliert [27].

Intrinsischer Subtyp	Rezeptor / Marker		
	ER / PR	HER2	Ki67
Luminal A	positiv	negativ	niedrig
Luminal B	positiv	negativ oder positiv	hoch
HER2-positiv	negativ	positiv	niedrig oder hoch
Triple negativ	negativ	negativ	niedrig oder hoch

Tabelle 2: Einteilung des Mammakarzinoms in intrinsische Subtypen nach dem Konsensus von St. Gallen

Luminal B-Tumore können dabei weiter unterteilt werden in Luminal B HER2 positiv oder HER2 negativ. Ausschlaggebend für die Unterscheidung zwischen Luminal A und Luminal B HER negativ Tumoren ist dabei die Unterscheidung des Proliferationsmarkers Ki-67 in „niedrig“ oder „hoch“. Die Festlegung dessen in einen absoluten Grenzwert wird nicht einheitlich gehandhabt und unterlag in der Vergangenheit regelmäßigen Änderungen. Auf dem letzten Konsensus Treffen im Jahr 2021 stimmte die Mehrheit für einen Ki-67-Grenzwert von 30% für die Durchführung einer adjuvanten Chemotherapie bei ER-positiven / HER2 negativen Tumoren [28].

Den intrinsischen Subtypen kommt zudem eine prognostische Bedeutung zu. Luminal A Tumore gelten als prognostisch günstig, mit niedrigen Rezidivraten und einem längeren krankheitsfreien Überleben. Triple negative Tumore gelten hingegen als prognostisch ungünstig mit hohen Rezidivraten und einer aggressiveren Tumorbiologie [29].

1.5 Therapieformen

1.5.1 Operative Therapie

Oberstes Ziel der operativen Therapie ist die Entfernung des Tumors im Gesunden. Dabei ist auch bei aggressivem Tumortyp und ungünstiger Tumorbiologie ein knapper, tumorfreier Resektionsrand („no tumor on ink“) ausreichend [30].

Der Zeitpunkt der Operation (vor oder nach Chemotherapie) hängt von den Tumoreigenschaften und der Tumorbiologie ab. Der heutige Goldstandard der operativen Therapie stellt die brusterhaltende Therapie (BET) mit anschließender adjuvanter Radiatio dar. Galt früher noch die komplette Entfernung der Brust (Mastektomie) als Standard, konnte später gezeigt werden, dass Patienten mit BET und anschließender Radiatio, ein gleichwertiges Überleben gegenüber Patientin mit Mastektomie haben, sofern der Tumor komplett entfernt werden konnte [31].

Zu den Indikationen bei denen eine BET nicht möglich, und eine Mastektomie durchgeführt werden sollte gehören [12]:

- Inkomplette Entfernung des Tumors (auch nach erfolgter Nachresektion)
- Inflammatorisches Mammakarzinom
- Kontraindikationen zur adjuvanten Radiatio nach BET bei absoluter Indikation zur Radiatio
- Patientenwunsch nach Aufklärung

Auch nach neoadjuvant erfolgter Systemtherapie sollte eine Operation anschließen, um eine lokale Kontrolle sicherzustellen und beurteilen zu können, ob eine pathologische Komplettremission (pCR) erreicht werden konnte [32]. Diese ist definiert als Tumorfreiheit sowohl in der Brust selbst, als auch in den Lymphknoten [32]. Das Vorliegen einer pCR ist ein wichtiger Prognosemarker und Entscheidungsfaktor für oder gegen die Durchführung einer adjuvanten Systemtherapie [33]. Als optimaler Zeitpunkt für die Operation nach neoadjuvanter Chemotherapie (NACT) gilt ein Zeitintervall von vier bis acht Wochen nach dem letzten Chemotherapiezyklus [34].

1.5.2 Axilläres Management

Im Rahmen der operativen Therapie der Brust sollte ein axilläres Staging erfolgen. Hierbei hat sich das Verfahren der Sentinellymphknotenbiopsie (SLNB) gegenüber der radikaleren Methode der axillären Lymphknotendissektion (ALND) als Staging-Verfahren etabliert [35]. Wurde eine Zeit lang die Durchführung der SLNB vor geplanter NACT favorisiert, hat sich mittlerweile die Durchführung der SLNB nach erfolgter NACT im Rahmen der Primärtumorentfernung etabliert [36].

Eine SLNB sollte durchgeführt werden, wenn klinisch und sonographisch kein Hinweis für ein Lymphknotenbefall vorliegt (cN0) [37]. Für die Markierung und die intraoperative Detektion des Sentinellymphknotens hat sich die Anwendung von Technetium99 markierten Kolloiden bewährt [38].

Das axilläre Management bei positivem Lymphknotenbefall unterliegt einem ständigen Wandel. Auch bei ein bis zwei befallenen Sentinellymphknoten kann aktuell analog der Ergebnisse der ACOSOG Z0011-Studie auf eine ALND verzichtet werden [35, 39]. Zudem konnte in der AMAROS-Studie gezeigt werden, dass Patienten mit positivem Befall der Sentinellymphknoten und adjuvanter axillärer Radiatio, ein ähnliches axilläres Rezidivrisiko aufwiesen, wie Patientinnen die eine komplettierende ALND erhielten [40].

Klare Indikationen für eine ALND sind derzeit jedoch weiterhin ein klinischer Befall der Lymphknoten und primärer Operation, bei fehlender axillärer Remission nach NACT oder bei lokal fortgeschrittenem Tumorstadium [39].

In wie weit das axilläre Staging in Zukunft weiter deeskaliert werden kann, bleibt aktuell noch Gegenstand von prospektiv randomisierten Studien.

1.5.3 Neoadjuvante systemische Therapie

Es konnte schon früh gezeigt werden, dass es keinen Unterschied im Gesamtüberleben zwischen neoadjuvanter (präoperativer) und adjuvant durchgeführter Chemotherapie (bei gleichem Therapieregime und gleicher Anzahl an durchgeführten Therapiezyklen) gibt [41, 42]. Jedoch kann eine neoadjuvant durchgeführte Chemotherapie, zu einer höheren Rate an brusterhaltenden Operationen führen [33]. Zudem kann bei primär inoperablen Tumoren eine Operabilität erreicht werden [43]. Daher sollte, bei bestehender Indikation für eine Chemotherapie, die neoadjuvante Gabe bevorzugt werden. Ziel jeder NACT ist dabei das Erreichen einer pCR. Es konnte gezeigt werden, dass das Erreichen einer pCR in allen Subgruppen mit einem höheren Überleben assoziiert war [44].

Besteht die Indikation für eine NACT sollte nach Diagnosestellung mit der Therapie zügig begonnen werden. Verzögerungen des Therapiebeginns von mehr als 60 Tage sind dabei mit einer Verschlechterung der Prognose assoziiert [45].

1.5.4 Neoadjuvant endokrine Therapie

Bei primär inoperablen Patientinnen, oder bei Patientinnen, die die Durchführung einer Chemotherapie ablehnen, sowie bei denen, wo die Durchführung aufgrund von Komorbiditäten nicht möglich ist, kann eine neoadjuvante endokrine Therapie bei Hormonrezeptor-positiven Tumoren durchgeführt werden [46]. Dies richtet sich vor allem an ältere, postmenopausale Patientinnen. Es bestehen nur wenige Daten zum Einsatz einer neoadjuvant endokrinen Therapie bei prämenopausalen Patientinnen. Dabei sollte eine neoadjuvante endokrine Therapie mindestens für vier bis sechs Monate erfolgen, oder alternativ bis zum Progress oder bis ein maximales, klinisches Ansprechen erreicht ist [47].

1.6 Rezeptoränderungen

1.6.1 Daten aus der metastasierten Situation

Trotz intensivierter Früherkennungsmaßnahmen und verbesserter Therapiemöglichkeiten kommt es teilweise immer noch zur Erstdiagnose der Erkrankung im metastasierten Stadium bzw. zum Fortschreiten der Erkrankung mit Ausbildung von ossären, hepatischen, pulmonalen oder zerebralen Metastasen. Sowohl internationale, als auch nationale Leitlinien empfehlen die erneute histologische Sicherung einer Fernmetastase mit erneuter Bestimmung des Rezeptorprofils [48]. Hintergrund dieser Empfehlung ist die Erkenntnis aus verschiedenen

Studien, dass der Rezeptorstatus sich im Laufe einer Erkrankung ändern kann, bzw. sich zwischen Primärtumor und Metastase unterscheiden kann [49]. Je nach Studie werden die Rezeptorunterschiede dabei für ER von 3-54%, für PR von 5-78% und für HER2 von 0-34% angegeben [50-52]. Dabei scheint der PR-Rezeptor der Rezeptor zu sein, bei dem es am häufigsten zu Rezeptoränderungen kommt [53]. Zudem scheint ein Rezeptorverlust deutlich häufiger vorzukommen, als ein Rezeptorzugewinn [52].

Es konnte gezeigt werden, dass eine Rezeptoränderung mit einer schlechteren Prognose für die Patienten assoziiert ist [54]. Patientin mit einem PR-positiven Primärtumor und einer PR-negativen Metastase hatten ein schlechteres Überleben als Patienten mit einem PR-positiven Primärtumor und einer ebenfalls PR-positiven Metastase [54]. Dabei konnte zudem gezeigt werden, dass Patienten mit PR-negativem Primärtumor und PR-positiver Metastase von einer endokrinen Therapie profitierten [54].

Aktuell wird die zielgerichtete Therapie eines Rezeptors empfohlen, wenn der Rezeptor mindestens in einer Biopsie positiv ist, ungeachtet der Lokalisation der Biopsie (Primärtumor oder Metastase) [48]. Dabei muss grundsätzlich bei jeder Änderung des Rezeptorprofils kritisch abgewogen werden, ob Patienten eine Übertherapie mit möglichen Nebenwirkungen zugemutet werden kann, oder ob Patienten eine Untertherapie angeboten und somit eine effektive Therapiemöglichkeit vorenthalten wird.

1.6.2 Fragestellung

Bislang existieren nur wenige Daten bezüglich der Rezeptorunterschiede in der primären Situation. Einzelne Arbeitsgruppen konnten anhand kleiner Patientenkollektive Rezeptorunterschiede zwischen Primärtumor und synchroner axillärer Lymphknotenmetastase auch in der Primärsituation beobachten [54, 55]. Aufgrund dünner Datenlage existieren diesbezüglich jedoch noch keine generellen Empfehlungen zur Bestimmung des Rezeptorprofils von Lymphknotenmetastasen in der Primärsituation.

Ziel dieser Arbeit war somit der Vergleich von Rezeptorprofilen zwischen Primärtumor und synchroner, axillärer Lymphknotenmetastase in der Primärsituation. Dabei sollten mithilfe einer retrospektiven Analyse die Rezeptorprofile zwischen Primärtumor und axillärer Lymphknotenmetastase unizentrisch an einem deutschen Brustzentrum erhoben und miteinander verglichen werden. Hierbei lag das Hauptaugenmerk auf der Primärsituation und damit größtenteils auf Patientinnen die bislang keine Therapie erhalten hatten. Zudem sollten die in der Literatur bislang diskutierten, unterschiedlichen Grenzwerte ($\geq 1\%$ und $\geq 10\%$) bei den Hormonrezeptoren ER und PR zur Anwendung kommen.

2. Publikation

Cancers (Basel). 2022 Apr 7;14(8):1863. doi: 10.3390/cancers14081863.

Heterogeneity between Core Needle Biopsy and Synchronous Axillary Lymph Node Metastases in Early Breast Cancer Patients-A Comparison of HER2, Estrogen and Progesterone Receptor Expression Profiles during Primary Treatment Regime

Laura Weydandt¹, Ivonne Nel¹, Anne Kreklau¹, Lars-Christian Horn², Bahriye Aktas¹

Affiliations:

¹ Department of Gynecology, Medical Center, University of Leipzig, 04103 Leipzig, Germany.

² Department of Pathology, Medical Center, University of Leipzig, 04103 Leipzig, Germany.

PMID: 35454772 PMCID: PMC9024720 DOI: 10.3390/cancers14081863

Free PMC article



Abstract

In breast cancer therapeutic decisions are based on the expression of estrogen (ER), progesterone (PR), the human epidermal growth factor 2 (HER2) receptors and the proliferation marker Ki67. However, only little is known concerning heterogeneity between the primary tumor and axillary lymph node metastases (LNM) in the primary site. We retrospectively analyzed receptor profiles of 215 early breast cancer patients with axillary synchronous LNM. Of our cohort, 69% were therapy naive and did not receive neoadjuvant treatment. Using immunohistochemistry, receptor status and Ki67 were compared between core needle biopsy of the tumor (t-CNB) and axillary LNM obtained during surgery. The discordance rates between t-CNB and axillary LNM were 12% for HER2, 6% for ER and 20% for PR. Receptor discordance appears to already occur at the primary site. Receptor losses might play a role concerning overtreatment concomitant with adverse drug effects, while receptor gains might be an option for additional targeted or endocrine therapy. Hence, not only receptor profiles of the tumor tissue but also of the synchronous axillary LNM should be considered in the choice of treatment.

Keywords: Ki67; axillary lymph node metastases; breast cancer; core needle biopsy; estrogen; human epidermal growth factor receptor-2; progesterone; receptor change; receptor expression profiles; tumor heterogeneity.

Article

Heterogeneity between Core Needle Biopsy and Synchronous Axillary Lymph Node Metastases in Early Breast Cancer Patients—A Comparison of HER2, Estrogen and Progesterone Receptor Expression Profiles during Primary Treatment Regime

Laura Weydandt ^{1,*} , Ivonne Nel ¹, Anne Kreklau ¹, Lars-Christian Horn ² and Bahriye Aktas ¹ 

¹ Department of Gynecology, Medical Center, University of Leipzig, 04103 Leipzig, Germany; ivonne.nel@medizin.uni-leipzig.de (I.N.); anne.kreklau@medizin.uni-leipzig.de (A.K.); bahriye.aktas@medizin.uni-leipzig.de (B.A.)

² Department of Pathology, Medical Center, University of Leipzig, 04103 Leipzig, Germany; lars-christian.horn@medizin.uni-leipzig.de

* Correspondence: laura.weydandt@medizin.uni-leipzig.de; Tel.: +49-341-9723924

Simple Summary: All initial therapeutic decisions in early breast cancer are commonly based on the intrinsic subtype consisting of estrogen (ER), progesterone (PR), the human epidermal growth factor 2 (HER2) receptors and the proliferation marker Ki67. However, breast cancer is a very heterogeneous disease, and receptor expression is reported to change during progression. Little is known about receptor changes at the primary site. In a German single center study, we retrospectively analyzed a mostly therapy naive cohort of 215 primary breast cancer patients with axillary synchronous lymph node metastases (LNM). We compared core needle biopsy tissue of the primary tumor (t-CNB) to axillary LNM and detected receptor discordance for all three receptors at the primary site.

Abstract: In breast cancer therapeutic decisions are based on the expression of estrogen (ER), progesterone (PR), the human epidermal growth factor 2 (HER2) receptors and the proliferation marker Ki67. However, only little is known concerning heterogeneity between the primary tumor and axillary lymph node metastases (LNM) in the primary site. We retrospectively analyzed receptor profiles of 215 early breast cancer patients with axillary synchronous LNM. Of our cohort, 69% were therapy naive and did not receive neoadjuvant treatment. Using immunohistochemistry, receptor status and Ki67 were compared between core needle biopsy of the tumor (t-CNB) and axillary LNM obtained during surgery. The discordance rates between t-CNB and axillary LNM were 12% for HER2, 6% for ER and 20% for PR. Receptor discordance appears to already occur at the primary site. Receptor losses might play a role concerning overtreatment concomitant with adverse drug effects, while receptor gains might be an option for additional targeted or endocrine therapy. Hence, not only receptor profiles of the tumor tissue but also of the synchronous axillary LNM should be considered in the choice of treatment.

Keywords: tumor heterogeneity; receptor change; breast cancer; core needle biopsy; axillary lymph node metastases; human epidermal growth factor receptor-2; estrogen; progesterone; Ki67; receptor expression profiles



Citation: Weydandt, L.; Nel, I.; Kreklau, A.; Horn, L.-C.; Aktas, B. Heterogeneity between Core Needle Biopsy and Synchronous Axillary Lymph Node Metastases in Early Breast Cancer Patients—A Comparison of HER2, Estrogen and Progesterone Receptor Expression Profiles during Primary Treatment Regime. *Cancers* **2022**, *14*, 1863. <https://doi.org/10.3390/cancers14081863>

Academic Editor: Robert C. Bast, Jr.

Received: 13 January 2022

Accepted: 5 April 2022

Published: 7 April 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Breast cancer is a very heterogeneous disease and can be classified into distinct intrinsic subtypes based on the expression profiles of the estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), the extent of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) and Ki67 index. Patients diagnosed with ER and/or PR positive tumors often receive endocrine therapy. Patients suffering from HER2 amplified tumors are prone to treatment with

targeted therapy such as trastuzumab and pertuzumab. Triple negative breast cancer (TNBC), is hormone-receptor negative (neither ER nor PR) and HER2 negative with poor prognosis. The majority of TNBCs show an aggressive phenotype. Patients usually receive chemotherapy but have an increased risk of recurrence. Immunohistochemical staining of ER, PR and HER2 in addition to the proliferation marker Ki67 are the basis for classifying breast cancer tumors according to the St. Gallen subtype classification into five different intrinsic subtypes: luminal A, luminal B/HER2 positive, luminal B/HER2 negative, HER2 enriched and triple negative. Receptor status profiling upfront surgical treatment is decisive when primary systemic treatment such as neoadjuvant chemotherapy (NACT) is required. Here, pre-surgical core needle biopsy tissue of the primary tumor (t-CNB) is a valuable diagnostic tool to determine ER, PR and HER2 expression. Concordance of ER, PR and HER2 profiles between t-CNB and surgical tumor specimens were described to be adequate with rates of 93.6%, 85.9%, and 96.3%, respectively [1,2].

Commonly, a tumor is considered hormone receptor (HR) positive if at least 1% of the tumor cells appear visible using immunohistochemical staining against ER and/or PR [3]. Recently, the updated guidelines for treatment with endocrine therapy revealed different cut-off values varying between $\geq 1\%$ and $\geq 10\%$ positive cells. Retrospective analysis has found that patients with 1–9% ER/PR positive tumor cells, so called low-positive HR patients, had worse survival rates compared to patients with ER/PR $\geq 10\%$ [4,5]. Interestingly, it was reported that ER low-positive tumors seemed to behave similarly to the aggressive triple negative tumor phenotype in terms of chemotherapy response rates and treatment resistance [6–8]. Yet, it is unclear whether this also applies to PR low tumors. Profiles of ER, PR and HER2 expression appeared to be inconsistent between the primary tumor and the axillary lymph nodes or metastatic spreads [9]. This receptor discordance has gained increased attention particularly regarding the treatment of patients with metastatic breast cancer. Numerous studies have indicated a major role during tumor progression and hence in patients' prognosis [10]. Particularly, discordance between the primary and nodal disease was reported to be correlated with a poor prognosis [11]. In women with luminal A breast cancer, a switch to non-luminal A lymph node metastasis was described in 38% of the cases in a retrospective study with 146 patients [12]. The inconsistent molecular subtype was correlated with aggressiveness and poor prognosis, thus suggesting systemic treatment with chemotherapy. Furthermore, altered receptor expressions between the primary tumor and lymph node metastases might play a role in acquired resistance during adjuvant targeted or endocrine therapy.

Axillary surgery has long been an established part of the management of primary breast cancer. While there have been many discussions about the extent of axillary surgery and classifications of axillary lymph nodes [13], either sentinel lymph node biopsy (SLNB) for clinically and radiologically uninvolved axilla, or complete axillary dissection (ALND) in cases of axillary lymph node metastases (LNM) is common practice [14].

However, only little research data has been published concerning heterogeneity between primary tumor and synchronous axillary lymph node metastases (LNM) during primary treatment [15–18]. It remains unclear whether receptor changes preferentially occur during disease recurrence and metastatic progression or whether they already appear at the beginning of the disease, before any systemic treatment has been applied. Here we present a comprehensive comparison of receptor expression profiles between pre-surgical t-CNB and synchronous axillary lymph node metastases at primary diagnosis, revealing therapeutically relevant aspects of tumor heterogeneity in breast cancer patients from a German single-center study.

2. Materials and Methods

This retrospective study was approved by the ethics committee of the medical faculty of the University of Leipzig (internal reference no. 181/20-ek). We included 215 patients, who were diagnosed with primary breast cancer and synchronous axillary LNM. All patients received treatment between 2008 and 2020 at the Department of Gynecology,

Medical Center, University of Leipzig, Germany (Table 1). The median age was 61 years, ranging from 31 to 85 years. The majority of the patients (74%) was diagnosed with an invasive carcinoma of no special type, also termed as ductal invasive carcinoma, 18 (8.4%) patients had an invasive lobular carcinoma, 33 (15.3%) patients suffered from a mixed invasive ductal-lobular carcinoma and 15 (7%) patients had a pre-surgical carcinoma and a post-surgical pTis tumor stage. Most patients had a primary tumor stage of pT1 (43.7%) or pT2 (34.9%), whereas an advanced local disease with pT3 and pT4 was diagnosed in only 23 (10.7%) and 8 (3.7%) patients, respectively. The final nodal status was pN0 after neoadjuvant chemotherapy in 19 (8.8%) patients, pN1 in 129 (60%) patients, pN2 in 50 (23.2%) and pN3 in 14 (8%) of the cases. Primary surgery (either sentinel lymph node biopsy (SLNB): 54.9% or axillary lymph node dissection (ALND): 45.1%) was performed in 149 (69.3%) cases without any neoadjuvant therapy; therefore, the majority of our patient cohort was therapy naive. Neoadjuvant chemotherapy was applied in 46 (21.4%) cases and neoadjuvant endocrine therapy in 20 (9.3%) cases. Concerning the grading, 57 (26.5%) cases showed G1, 115 (53.5%) G2 and 43 (20%) G3 in the t-CNB. For disease management and patient prognosis, the clinicopathological characteristics and the receptor expression profiles of t-CNB specimens were transmitted into molecular intrinsic subtypes according to the St. Gallen classification [19]. This stratification revealed 41.4% luminal A tumors, 11.6% luminal B/HER2 positive tumors, 26.5% luminal B/HER2 negative tumors, 6.5% HER2 enriched tumors and 7.9% triple negative tumors.

Table 1. Baseline characteristics.

Parameters	No. of Patients	
	n = 215	%
Median age [years] (IQR)	61 (50–73)	
Premenopausal	55 (25.6)	
Perimenopausal	5 (2.3)	
Postmenopausal	155 (72.1)	
Surgery		
Sentinel node biopsy	118	54.9
Axillary node dissection	97	45.1
Pathological tumor stage		
pTis	15	7
pT1	94	43.7
pT2	75	34.9
pT3	23	10.7
pT4	8	3.7
Pathological nodal status *		
pN0	19	8.8
pN1	129	60
pN2	50	23.2
pN3	17	8
Upfront therapy		
No therapy	149	69.3
Neoadjuvant chemotherapy	46	21.4
Endocrine therapy	20	9.3
t-CNB analyzed	215	100
t-CNB histology		
Invasive carcinoma of no special type	159	74
Invasive lobular	18	8.4
Mixed invasive ductal and lobular	33	15.3
Other histology (e.g., metaplastic, mucinous)	5	2.3

Table 1. Cont.

Parameters	No. of Patients	
	n = 215	%
t-CNB grading		
G1	57	26.5
G2	115	53.5
G3	43	20
t-CNB intrinsic subtype		
Luminal A	89	41.4
Luminal B/HER2+	25	11.6
Luminal B/HER2−	57	26.5
HER2 enriched	14	6.5
Triple negative	17	7.9
Not available **	13	6
LNM analyzed	211	98.1
LNM missing ***	4	1.9
Median time [days] between t-CNB and surgery		
Overall	65.6	
No neoadjuvant therapy	23.8	
Neoadjuvant chemotherapy	176.5	
Neoadjuvant endocrine therapy	118.3	

* after final breast surgery ** due to missing Ki67 *** due to no spare tumor tissue.

The basic patient characteristics and clinicopathological data, including age, tumor stage, grading, nodal status, histological subtype, receptor status (ER, PR, HER2) and Ki67 index of the t-CNB were received during clinical routines and documented in the medical reports. For our study, we performed a re-analysis of the Ki67 index and expression profiling of ER, PR, HER2, using formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) specimens from synchronous axillary LNM. The material was obtained by core needle biopsy at primary diagnosis (t-CNB) of the breast and during primary oncological surgery of the axilla (LNM), respectively. Sentinel lymph nodes were identified with preoperative injection of Tc99. In cases of multiple positive lymph nodes occurring during surgery, we chose one specimen for immunohistochemical staining and evaluation.

Immunohistochemical examination was performed according to the ASCO/CAP guidelines using the Ventana platform [3,20–22]. Due to recurring discussions in the literature concerning different cut-off values for ER and PR to initiate endocrine therapy [4], stained specimens were divided into two groups with cut-off levels at either $\geq 1\%$ or $\geq 10\%$. A tumor was defined as ER/PR positive if expression was observed in at least 1% and 10% of the tumor cells, respectively, and ER/PR negative when $< 1\%$ and $< 10\%$ of the tumor cells, respectively, were positive. The immunohistochemical evaluation of HER2 was performed by the local pathology department according to the most recent ASCO-guidelines [22]. All the cases were evaluated by the same experienced pathologist who examined all the specimens for this study.

Membranous HER2-staining was scored as follows: Negative = 0 (no staining) and 1+ (weak incomplete staining in $< 10\%$ of the tumor cells); Equivocal = 2+ (weak/moderate complete staining in at least 10% of the tumor cells); Positive = 3+ (strong complete membrane staining in at least 30% of the tumor cells). In the case of equivocal (2+) HER2-immunostaining, additional chromogenic in situ hybridization (CISH) analysis of the primary breast tumor was performed [22]. Patients were considered HER2 negative when immunostaining was equivocal (2+) and CISH was negative. In four cases the immunostaining against HER2 was equivocal (2+) in the axillary LNM. Due to limited tissue no additional CISH was performed, and therefore, we interpreted the receptor as stable compared to the t-CNB.

After final evaluation of ER, PR, HER2 and Ki67 immunohistochemical staining results, LNM specimens were grouped into intrinsic subtypes (Luminal A, Luminal/B HER

negative, Luminal B/HER2 positive, HER2 enriched and triple negative) according to St Gallen classification [19] and compared with intrinsic subtypes of the t-CNB.

Statistical data analysis was performed using SPSS version 21 (IBM Corp, Armonk NY, USA). Normality of continuous data was tested by means of the Kolmogorov–Smirnov test and the homogeneity of variances was analyzed using Levene’s test. Descriptive statistics were used to compare the baseline characteristics between patients according to the presence of receptor heterogeneity and tumor stage, tumor grading and neoadjuvant therapy regime, while median and interquartile range (IQR) were used for continuous variables. A *p*-value of < 0.05 was used as the threshold of statistical significance for all analyses. Inclusion criteria for the analysis was a complete data set for each patient. Patients with missing data were treated as missing completely at random and excluded from specific analysis.

3. Results

3.1. Comparison of ER, PR and HER2 Status in t-CNB and LNM Using $\geq 1\%$ vs. $\geq 10\%$ Positivity Cut-Off Levels

We analyzed receptor expression profiles as described above in 215 t-CNB and 211 matching axillary LNM using two different cut-off values. Overall, four LNM were not available for analysis due to a lack of spare tumor tissue.

When comparing ER positivity rates between both cut-off groups, the shift from $\geq 10\%$ to $\geq 1\%$ positive cells appeared to have no discernable impact concerning the receptor status of the t-CNB and LNM. In the t-CNB, ER receptor status was very similar with positivity rates as high as 83.7% and 83.3% in the $\geq 1\%$ and $\geq 10\%$ groups, respectively. When looking at the receptor profiles of the axillary LNM, ER positivity was again very similar with rates of 78.1% and 76.7% in the $\geq 1\%$ and $\geq 10\%$ groups, respectively.

However, considering the PR profile, decreasing the cut-off level from $\geq 10\%$ to $\geq 1\%$ positive cells revealed a statistically significant increase of the PR positivity rate among t-CNB specimens and particularly among LNM samples. In t-CNB samples, 153 and 166 tumors were PR positive using $\geq 10\%$ and $\geq 1\%$ cut-off values, respectively, indicating a 6% increase. The number of positive cases increased by 13 when using the $\geq 1\%$ cut-off compared to $\geq 10\%$. The rate of PR positive tumors increased by 12.6% (105 vs. 132) in LNM specimens when comparing $\geq 10\%$ vs. $\geq 1\%$ cut-off values ($p < 0.001$).

HER2 was positive in 19.1% of the t-CNB cases and in 10.7% of the LNM specimens. Hence, the HER2 positivity appeared to drop in nearly half of the cases when comparing t-CNB to LNM ($p < 0.01$).

The expression profiles are summarized in Table 2 and representative images of immunohistochemical evaluation are shown in Figure 1.

Table 2. Receptor analysis of ER, PR and HER2.

Parameters	t-CNB	LNM	<i>p</i> -Value
	<i>n</i> (%)	<i>n</i> (%)	
ER analyzed	215 (100)	211 * (98.1)	
positive ($\geq 1\%$)	180 (83.7)	168 (78.1)	0.02
positive ($\geq 10\%$)	179 (83.3)	165 (76.7)	<0.01
<i>p</i> -value	0.25	1	
PR analyzed	215 (100)	211 * (98.1)	
positive ($\geq 1\%$)	166 (77.2)	132 (61.4)	<0.001
positive ($\geq 10\%$)	153 (71.2)	105 (48.8)	<0.001
<i>p</i> -value	<0.001	<0.001	
HER2 analyzed	215 (100)	205 * (95.3)	
positive	41 (19.1)	23 (10.7)	<0.01

Receptor analysis in t-CNB and LNM specimens using different cut-off values for ER and PR, showing a significant increase of PR positive cases when applying the $\geq 1\%$ cut-off compared to the $\geq 10\%$ cut-off. Further, receptor positivity was significantly decreased in the LNM vs. t-CNB specimens. * Some LNM were not available for further receptor analysis due to a lack of spare tumor tissue.

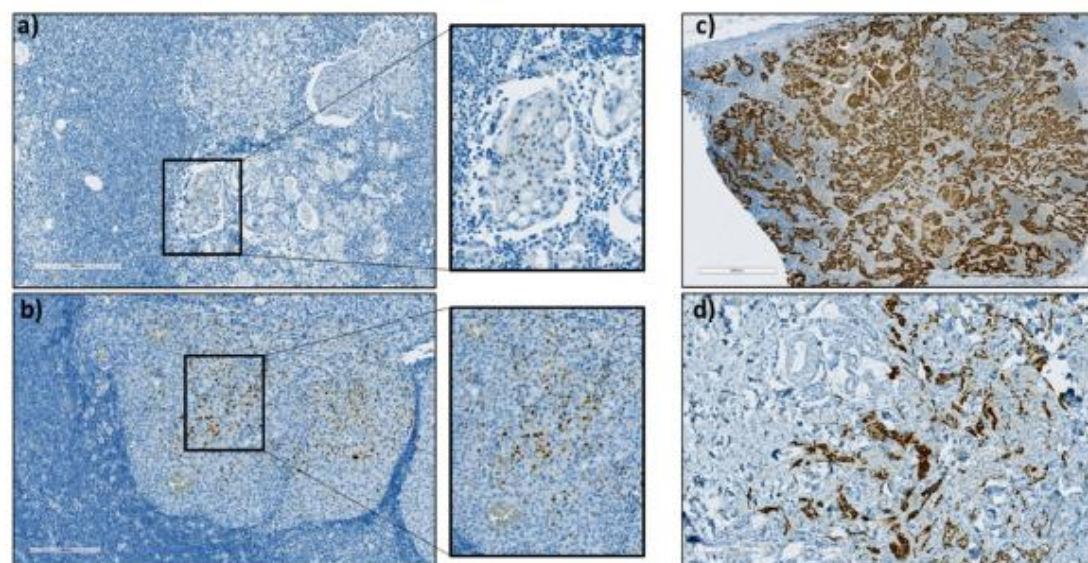


Figure 1. Immunohistochemical staining against PR in LNM specimens showing (a) $\geq 1\%$ PR positive tumor cells, (b) $\geq 10\%$ PR positive tumor cells, (c) 100% PR positive tumor cells and (d) a t-CNB derived from a PR positive mamma carcinoma which was used as a positive control.

3.2. Analysis of ER, PR and HER2 Discordance between t-CNB and LNM

We compared receptor expression profiles of ER, PR and HER2 between t-CNB and 211 notable matching axillary LNM and analyzed receptor changes. A receptor change occurred either as a receptor loss (t-CNB receptor positive and matching LNM receptor negative) or as a receptor gain (t-CNB receptor negative and matching LNM receptor positive). In total, 13 cases showed a receptor gain in LNM compared to t-CNB and a receptor loss was found in 69 cases when using the $\geq 1\%$ cut-off (Table 3). When the $\geq 10\%$ cut-off was applied, the number of specimens with receptor gain was 13, similar to with the decreased cut-off value. However, the number of receptor losses was increased. Hence, when applying the $\geq 10\%$ cut-off, the total number of detected receptor losses increased to 85.

Table 3. Change of ER, PR and HER receptor status in t-CNB vs. LNM.

Receptor	Change	Cut-Off $\geq 1\%$	Cut-Off $\geq 10\%$
		n (%)	n (%)
ER	Overall	13(6)	15 (6.9)
	Receptor loss	11 (5.1)	13 (6)
	Receptor gain	2 (0.9)	2 (0.9)
PR	Overall	43 (20)	57 (26.5)
	Receptor loss	37 (17.2)	51 (23.7)
	Receptor gain	6 (2.8)	6 (2.8)
HER2	Overall	26 (12.1)	26 (12.1)
	Receptor loss	21 (9.8)	21 (9.8)
	Receptor gain	5 (2.3)	5 (2.3)

Changes of ER, PR and HER2 receptor profiling revealed 6% (6.9%), 20% (26.5) and 12.1% discordance rates for ER, PR and ER, respectively. In total, 13 cases showed a receptor gain and 69 cases showed a receptor loss when comparing t-CNB and LNM (applying the $\geq 1\%$ cut-off).

As shown in Table 3, the discordance rates between axillary LNM and t-CNB were 6% and 6.9%, respectively, for ER, 20% and 26.5%, respectively, for PR in the $\geq 1\%$ and $\geq 10\%$ groups, and 12.1% for HER2 (Figure 2). We observed an increased occurrence of receptor changes for both ER and PR when applying the $\geq 10\%$ cut-off. On the other hand, discordance rates were decreased when applying the $\geq 1\%$ cut-off. In our analysis, PR was the receptor which changed most frequently. The overall discordance rates are shown in Figure 2.

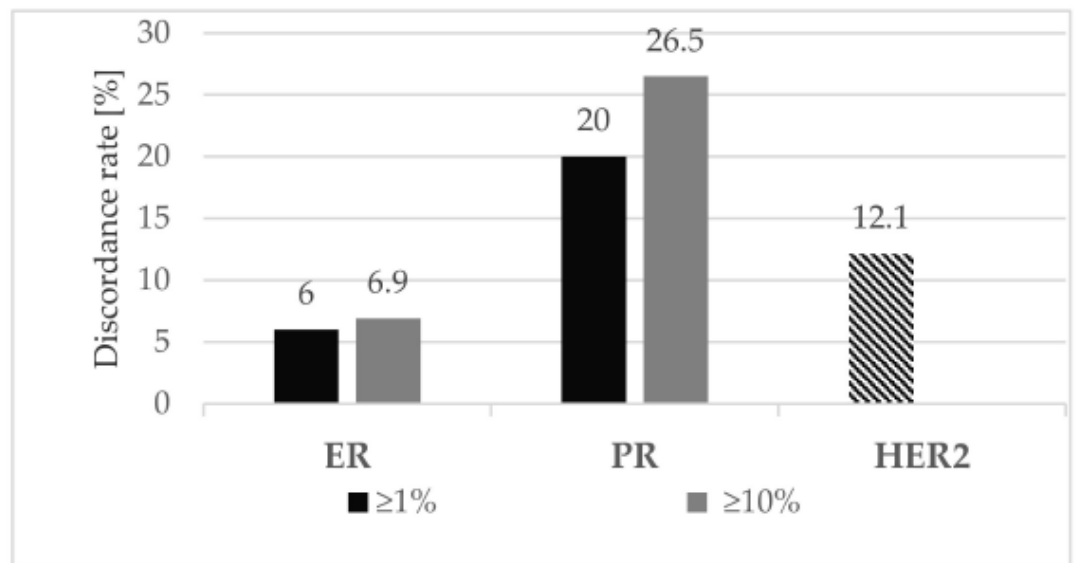


Figure 2. Discordance rates of ER, PR (using cut-offs $\geq 1\%$ and $\geq 10\%$) and HER2 in LNM compared with t-CNB. The discordance rates between axillary LNM and t-CNB were 6% and 6.9%, respectively for ER, 20% and 26.5%, respectively for PR in the $\geq 1\%$ and $\geq 10\%$ groups, and 12.1% for HER2.

3.3. Analysis of Intrinsic Subtype Discordance between LNM and t-CNB (Using $\geq 1\%$ Cut-Off Value)

Additionally, we compared intrinsic subtypes between t-CNB and LNM. Descriptive analysis of the intrinsic subtypes in the LNM specimens showed an increase of luminal A tumors up to 50.2%, a decrease in luminal B/HER2 positive tumors to 7%, a decrease in luminal B/HER2 negative tumors to 19.5%, a drop of HER2 enriched tumors down to 3.7% and an increased rate of triple negative tumors as high as 13.5% (Figure 3). It is noteworthy that receptor losses were associated with a decreased proliferation index in LNM, possibly causing an increase of luminal A specimens (Table 4).

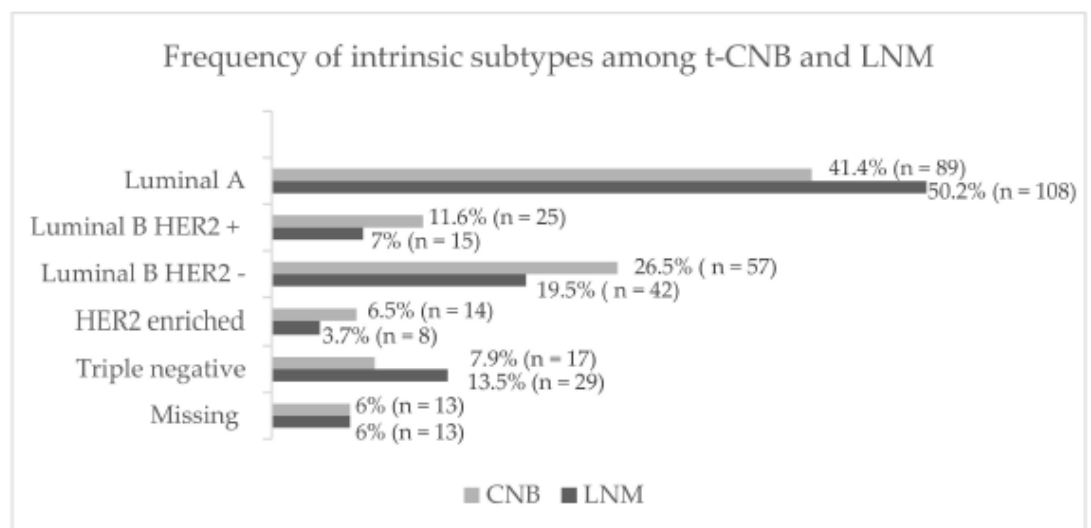


Figure 3. Changes of intrinsic subtypes in t-CNB compared to LNM ($n = 202$). Both, luminal A tumors and triple negative tumors, increased by 8.8% and 5.9%, respectively. The rate of luminal B and HER2 enriched tumors decreased between t-CNB and LNM specimens.

Table 4. Competitive analysis of receptor changes for ER, PR and HER2.

LNM/t-CNB Parameters	Estrogen (≥1%)			Progesterone (≥1%)			HER2		
	no Loss/Gain	Loss/Gain	p-Value	no Loss/Gain	Loss/Gain	p-Value	no Loss/Gain	Loss/Gain	p-Value
Median age [years] (IQR 1)	62 (50–73)	53 (50–59)	<0.01	61 (48–72)	63 (51–75)	0.14	61 (49–72)	63 (51–74)	0.65
Ki 67—LNM [%] (IQR 1)	10 (2–30)	40 (1–80)	0.11	10 (2–30)	5 (1–75)	0.26	10 (2–40)	7 (1–33)	0.75
Ki 67—t-CNB [%] (IQR 1)	15 (7–40)	40 (7–66)	0.18	15 (5–40)	28 (10–40)	0.91	15 (5–35)	3 (14–67)	0.01
Pathological tumor stage [n (%)]									
pTis	11 (5.6)	3 (23.1)		10 (6)	4 (11.6)		12 (6.7)	2 (7.7)	
pT 1	89 (44.9)	2 (15.4)		75 (44.6)	16 (37.2)		78 (43.6)	11 (42.3)	
pT 2	69 (34.8)	5 (38.5)	0.11	56 (33.3)	17 (39.5)	<0.01	62 (34.6)	8 (30.8)	0.68
pT 3	21 (10.6)	2 (15.4)		23 (13.7)	0		18 (10.1)	5 (19.2)	
pT 4	7 (3.5)	1 (7.7)		4 (2.4)	4 (9.3)		8 (4.5)	0	
Neoadjuvant therapy [n (%)]									
No therapy	137 (69.5)	8 (61.5)		118 (70.7)	27 (62.8)		125 (70.2)	15 (57.7)	
NACT2	41 (20.8)	4 (30.8)	0.7	36 (21.6)	9 (20.9)	0.23	34 (19.1)	10 (38.5)	0.63
Endocrine therapy	19 (9.6)	1 (7.7)		13 (7.8)	7 (16.3)		19 (10.7)	1 (3.8)	

Competitive analysis of receptor changes showing that a change of ER occurred significantly more often in younger patients and was associated with an increased Ki67 index. HER2 change was significantly correlated with a decreased Ki67 index in t-CNB, indicating a possible switch towards luminal A tumor characteristics. Tumor stage was not significantly associated with ER and HER2 heterogeneity. PR changes appeared to be correlated with tumor stage. There were no significant associations between a receptor change (ER, PR, HER2) and therapy-related parameters. ¹ IQR: interquartile range; ² NACT: Neoadjuvant chemotherapy.

3.4. Correlation between Clinicopathological Parameters and Receptor Heterogeneity

Competitive analysis of tumor associated variables and receptor heterogeneity using the $\geq 1\%$ receptor positivity cut-off in LNM compared to t-CNB revealed that a change (loss or gain) of ER was by trend associated with an increased Ki67 index (40% vs. 10% in the no change group; $p = 0.11$) and occurred significantly more often in younger patients (median 53 vs. 62 years in the no change group; $p < 0.01$). When considering the PR change using the $\geq 1\%$ positivity specimens of LNM and t-CNB, although not significantly, a change appeared to be associated with patients younger than 63 years. It is worth noting that a HER2 change, which was mostly a loss of staining, was significantly correlated with a decreased Ki67 index (15 vs. 3 in the no change/change group; $p = 0.01$) in t-CNB (Table 4), indicating a possible switch towards luminal A tumor characteristics and presenting a contrast to the increase of more aggressive triple negative tumors.

We analyzed different tumor stages between groups with vs. without receptor changes. As for PR, we noticed a significant correlation between tumor stage and receptor heterogeneity, although with contradictory figures within the subgroups. PR changes were decreased by 7% among patients with T1, but increased by 6% among T2 tumors. In patients with T3 tumors we did not observe PR changes. Among patients with T4 and Tis, PR heterogeneity was increased by a factor of four and two, respectively. For ER and HER2, heterogeneity was not significantly associated with tumor stage. Hence, there was no definite correlation between receptor heterogeneity and tumor stage.

Further, we did not find any significant associations between a receptor change (ER; PR; HER2) and therapy-related parameters.

The majority of our cohort had not received any upfront therapy. However, a small sub-cohort of 46 patients received NACT and 20 patients were treated with endocrine therapy. When examining ER, we found an increased rate of changes in the NACT-group compared with patients without therapy or with endocrine treatment (8.9% vs. 5.5% vs. 5.0%). Further, we found an increased number of HER2 changes when comparing no therapy and NACT (10.7% vs. 22.7%, no statistical significance). The number of PR changes increased in patients treated with endocrine therapy compared to the no therapy and NACT groups (35% vs. 18.6% vs. 20%, no level of statistical significance, Table 4).

4. Discussion

In this study we made extensive comparisons between receptor expression profiles of pre-surgical t-CNB of the primary tumor, and synchronous axillary lymph node metastases (LNM) obtained during surgery of early breast cancer patients within primary treatment regimes. ER, PR and HER2 status was immunohistochemically analyzed using the common cut-off at $\geq 10\%$ positive tumor cells vs. the much debated low-positive cut-off at $\geq 1\%$. Overall, 82 of 645 receptors had at least one change using the $\geq 1\%$ cut-off value. This finding is consistent with a study by Aitken et al. showing a significant number of patients with discordant quantitative expression of molecular markers between primary and nodal disease. They reported that 46.9% of the analyzed cases had disparate breast/node receptor status of at least one receptor [23]. Additionally, other research groups also reported high discordance rates between synchronous axillary LNM and the primary tumor, although with lower numbers of matched pairs [24]. When we split the positive ER/PR groups into low and high using cut-off levels $\geq 1\%$ vs. $\geq 10\%$ positive tumor cells, no major differences were observed in the ER status. The rate of PR positive tumors, however, increased by 12.6% in the LNM when the cut-off was decreased to $\geq 1\%$, indicating that these patients might have the additional option to receive endocrine therapy in case they were not already ER positive. We focused on receptor changes in LNM specimens obtained during surgery compared with pre-surgical t-CNB at primary diagnosis. Discordance rates were 6% for ER, 20% for PR and 12.1% for HER2 between LNM and t-CNB (using a cut-off of $\geq 1\%$). The discordance rates appear to match analyses of distant metastases and primary breast tumor tissue which were reported to vary between 7 and 50% for ER, 10 and 50% for PR and 3 and 30% for HER2 [11,25–29]. It is widely accepted that receptor expression might change

during tumor progression [10]. Hence, at recurrence, tissue biopsy and reassessment of biological as well as immunohistochemical features has become a standard procedure in the treatment of breast cancer [21].

Our data, however, suggest that at primary diagnosis, a receptor profile assessment not solely based on the t-CNB, but additionally on the synchronous axillary LNM, might draw a clearer picture of the tumor before treatment decisions are made.

In our cohort, we observed a higher number of patients with receptor losses than with receptor gains. In total we found 69 losses vs. 13 gains using a cut-off of $\geq 1\%$. Hence, our data strengthen the assumption that receptor loss seems to be a more frequent event than receptor gain [30]. Furthermore, the discordance rates of receptor profiles in LNM compared with t-CNB indicated that PR appeared to be the most unstable. This confirms reported data from de Duenas et al. [31]. Various hypotheses were postulated to explain receptor discordance. One explanation for possible receptor changes between synchronous LNM and primary tumor might be the clonal selection hypothesis, which suggests that the primary tumor consists of multiple clonal subpopulations that are capable of forming metastases and result in different tumor cell phenotypes [32–34]. Concerning the hormonal receptors ER and PR, we observed that changes occurred more frequently in younger patients, underlining the evidence that younger patients tend to suffer from more aggressive tumors and thus have a poorer prognosis [35]. Our results suggest that metastatic cells seek to become triple negative and hence eliminate their targetable receptors in order to obtain a more aggressive phenotype. This is further supported by the increased proportion of the triple-negative intrinsic subtype and decreased proportions of HER2-enriched and luminal B tumors in LNM compared with t-CNB specimens. On the other hand, it may be possible that triple negative cells are the more motile cancer cells and thus metastasizing to the lymph nodes. Surprisingly, HER2 changes, which were predominantly receptor losses, were associated with decreased cell proliferation in the t-CNB specimens, indicating that luminal B/HER2 tumors might eliminate HER2 and hence gain a luminal A phenotype, which is consistent with decreased Ki67. Accordingly, we noticed an increase in luminal A tumors (41.4% in t-CNB vs. 50.2% in LNM) that are associated with a good prognosis [36] and require no further chemo- but endocrine therapy. On the one hand, based on the current guidelines, these patients might receive overtreatment with the risk of adverse drug effects. On the other hand, patients with tumors that present a triple-negative phenotype in the nodal sample might not receive appropriate treatment with chemotherapy. Considering that we observed both an increase in luminal A tumors with good prognosis and less therapeutic necessity as well as an increase in aggressive triple negative tumor subtypes that require additional therapy, it is crucial to detect alterations of the receptor expression profiles in the LNM compared with t-CNB.

While other research groups suggested the selective pressure of therapy might lead to a receptor change [37], we could not entirely confirm this, as 69.3% of our cohort had no upfront therapy. It is important to emphasize that the majority of our patients had not received any therapy, yet our data revealed discordance between postsurgical LNM tumor specimens and receptor profiles obtained from pre-surgical t-CNB. Hence, possible theories concerning the influence of therapy seem not very likely. Here, the theory of intra-tumoral heterogeneity might be applicable. This theory suggests that a single biopsy is unlikely to represent the genomic landscape of a patient's cancer accurately [38–40]. The variable expression of biomarkers within a heterogeneous tumor such as breast cancer might cause interpretation problems and lead to discordant results in small biopsies such as t-CNB [41].

Hence, a receptor gain might occur in cases when a sub-clonal tumor cell population was missed during small biopsies of t-CNB but positively analyzed in the surgical tumor sample of LNM, which usually delivers sufficient tissue amounts.

Other research groups have shown that a discordance in the receptor profile may have an impact on the patient's outcome [11]. Patients who had PR negative primary tumors and PR positive paired LNM had higher survival rates when treated with endocrine therapy compared with those not receiving endocrine therapy. Additionally, patients with

a detected HER2 heterogeneity had a decreased disease-free survival [42]. At this time, we cannot yet answer outcome related questions as we lack survival data for our patients.

Although our study included a high number of patients without any upfront therapy, there was also a small sub-cohort of patients receiving neoadjuvant therapy. Among this sub-cohort, we observed an increased rate of receptor changes. In the sub-cohort treated with endocrine therapy, we discovered an elevated rate of PR changes. Despite the small number of patients in the sub-groups, these findings might add strength to the theory that therapy causes selective pressure, which could lead to a receptor change, in most cases a receptor loss. In order to investigate receptor changes during primary treatment, studies with larger patient cohorts are required.

Since our study was a retrospective analysis, no change of treatment was performed. Especially receptor gains might offer a new possible target for further therapies. Hence, guidelines recommend to consider a targeted therapy when receptors are positive at least in one biopsy, regardless of the location [21]. Further research needs to be conducted to investigate whether an individual treatment decision based on the LNM and t-CNB receptor profile at primary diagnosis might improve clinical outcome of breast cancer patients.

5. Conclusions

Receptor discordance between t-CNB and synchronous axillary LNM appears to already exist at the primary site and might reflect intra-tumor heterogeneity. Hence, receptor profiles of the tumor tissue and the synchronous axillary LNM should be considered in treatment decisions, not only at recurrence but particularly also during the primary treatment regime.

Author Contributions: Conceptualization, B.A. and L.W.; methodology, L.W.; software, L.W. and A.K.; validation, L.W., I.N. and B.A.; formal analysis, L.W., A.K. and I.N.; investigation, L.W. and L.-C.H.; resources, B.A. and L.-C.H.; data curation, L.W. and A.K.; writing—original draft preparation, L.W., A.K. and I.N.; writing—review and editing, all of the authors; visualization, L.W. and I.N.; supervision, B.A.; project administration, B.A. and L.W.; funding acquisition, no funding. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and approved by the ethics committee of the medical faculty of the University of Leipzig (protocol code: 181/20-ek, date of approval: 10 July 2020).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to privacy and ethical reasons.

Acknowledgments: We thank all patients who took part in this study and donated their spare tumor material. Additionally, we thank Regina Scherling for her help and work in the laboratory.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Meattini, I.; Bicchierai, G.; Saieva, C.; De Benedetto, D.; Desideri, I.; Becherini, C.; Abdulcadir, D.; Vanzi, E.; Boeri, C.; Gabbriellini, S.; et al. Impact of molecular subtypes classification concordance between preoperative core needle biopsy and surgical specimen on early breast cancer management: Single-institution experience and review of published literature. *Eur. J. Surg. Oncol.* **2017**, *43*, 642–648. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Chen, X.; Sun, L.; Mao, Y.; Zhu, S.; Wu, J.; Huang, O.; Li, Y.; Chen, W.; Wang, J.; Yuan, Y.; et al. Preoperative core needle biopsy is accurate in determining molecular subtypes in invasive breast cancer. *BMC Cancer* **2013**, *13*, 390. [[CrossRef](#)]
3. Hammond, M.E.; Hayes, D.F.; Wolff, A.C.; Mangu, P.B.; Temin, S. American society of clinical oncology/college of american pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J. Oncol. Pract.* **2010**, *6*, 195–197. [[CrossRef](#)]
4. Yi, M.; Huo, L.; Koenig, K.B.; Mittendorf, E.A.; Meric-Bernstam, F.; Kuerer, H.M.; Bedrosian, I.; Buzdar, A.U.; Symmans, W.F.; Crow, J.R.; et al. Which threshold for ER positivity? A retrospective study based on 9639 patients. *Ann. Oncol.* **2014**, *25*, 1004–1011. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

5. Schrodi, S.; Braun, M.; Androlat, A.; Harbeck, N.; Mahner, S.; Kiechle, M.; Klein, E.; Schnelzer, A.; Schindlbeck, C.; Bauerfeind, I.; et al. Outcome of breast cancer patients with low hormone receptor positivity: Analysis of a 15-year population-based cohort. *Ann. Oncol.* **2021**, *32*, 1410–1424. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Gloyeske, N.C.; Dabbs, D.J.; Bhargava, R. Low ER+ breast cancer: Is this a distinct group? *Am. J. Clin. Pathol.* **2014**, *141*, 697–701. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Landmann, A.; Farrugia, D.J.; Zhu, L.; Diego, E.J.; Johnson, R.R.; Soran, A.; Dabbs, D.J.; Clark, B.Z.; Puhalla, S.L.; Jankowitz, R.C.; et al. Low Estrogen Receptor (ER)-Positive Breast Cancer and Neoadjuvant Systemic Chemotherapy: Is Response Similar to Typical ER-Positive or ER-Negative Disease? *Am. J. Clin. Pathol.* **2018**, *150*, 34–42. [[CrossRef](#)]
8. Poon, I.K.; Tsang, J.Y.; Li, J.; Chan, S.K.; Shea, K.H.; Tse, G.M. The significance of highlighting the oestrogen receptor low category in breast cancer. *Br. J. Cancer* **2020**, *123*, 1223–1227. [[CrossRef](#)]
9. Georgescu, R.; Boros, M.; Moncea, D.; Bauer, O.; Coros, M.-F.; Oprea, A.; Moldovan, C.; Podoleanu, C.; Stolnicu, C. Discordance Rate in Estrogen Receptor, Progesterone Receptor, HER2 Status, and Ki67 Index Between Primary Unifocal and Multiple Homogenous Breast Carcinomas and Synchronous Axillary Lymph Node Metastases Have an Impact on Therapeutic Decision. *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.* **2018**, *26*, 533–538. [[CrossRef](#)]
10. Lindstrom, L.S.; Karlsson, E.; Wilking, U.M.; Johansson, U.; Hartman, J.; Lidbrink, E.K.; Hatschek, T.; Skoog, L.; Bergh, J. Clinically used breast cancer markers such as estrogen receptor, progesterone receptor, and human epidermal growth factor receptor 2 are unstable throughout tumor progression. *J. Clin. Oncol.* **2012**, *30*, 2601–2608. [[CrossRef](#)]
11. Ba, J.L.; Liu, C.G.; Jin, F. Alterations in hormonal receptor expression and HER2 status between primary breast tumors and paired nodal metastases: Discordance rates and prognosis. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* **2014**, *15*, 9233–9239. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Sun, Y.; Liu, X.; Cui, S.; Li, L.; Tian, P.; Liu, S.; Li, Y.; Yin, M.; Zhang, C.; Mao, Q.; et al. The inconsistency of molecular subtypes between primary foci and metastatic axillary lymph nodes in Luminal A breast cancer patients among Chinese women, an indication for chemotherapy? *Tumour Biol.* **2016**, *37*, 9555–9563. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Ciocchi, R.; Amabile, M.I.; De Luca, A.; Frusone, F.; Tripodi, D.; Gentile, P.; Tabola, R.; Pironi, D.; Forte, F.; Monti, M.; et al. New classifications of axillary lymph nodes and their anatomical-clinical correlations in breast surgery. *World J. Surg. Oncol.* **2021**, *19*, 93. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Bromham, N.; Schmidt-Hansen, M.; Astin, M.; Hasler, E.; Reed, M.W. Axillary treatment for operable primary breast cancer. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2017**, *1*, CD004561. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Rossi, S.; Basso, M.; Strippoli, A.; Dadduzio, V.; Cerchiaro, E.; Barile, R.; D'Argento, E.; Cassano, A.; Schinzari, G.; Barone, C. Hormone Receptor Status and HER2 Expression in Primary Breast Cancer Compared with Synchronous Axillary Metastases or Recurrent Metastatic Disease. *Clin. Breast Cancer* **2015**, *15*, 307–312. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Ieni, A.; Barresi, V.; Caltabiano, R.; Cascone, A.M.; Del Sordo, R.; Cabibi, D.; Zeppa, P.; Lanzafame, S.; Sidoni, A.; Franco, V.; et al. Discordance rate of HER2 status in primary breast carcinomas versus synchronous axillary lymph node metastases: A multicenter retrospective investigation. *Onco Targets Ther.* **2014**, *7*, 1267–1272. [[CrossRef](#)]
17. D'Andrea, M.R.; Limiti, M.R.; Bari, M.; Zambenedetti, P.; Montagutti, A.; Ricci, F.; Pappagallo, G.L.; Sartori, D.; Vinante, O.; Mingazzini, P.L. Correlation between genetic and biological aspects in primary non-metastatic breast cancers and corresponding synchronous axillary lymph node metastasis. *Breast Cancer Res. Treat.* **2007**, *101*, 279–284. [[CrossRef](#)]
18. Mannell, A.; Nel, C.E.; Smilg, J.S.; Haberfeld, J.; Nietz, S.; Candy, G.P. A prospective study of receptor profiles in breast cancer and the ipsilateral axillary lymph node metastases measured simultaneously in treatment naïve cases. *S. Afr. J. Surg.* **2020**, *58*, 86–90. [[CrossRef](#)]
19. Vasconcelos, I.; Hussainzada, A.; Berger, S.; Fietze, E.; Linke, J.; Siedentopf, F.; Schoenegg, W. The St. Gallen surrogate classification for breast cancer subtypes successfully predicts tumor presenting features, nodal involvement, recurrence patterns and disease free survival. *Breast* **2016**, *29*, 181–185. [[CrossRef](#)]
20. Nielsen, T.O.; Leung, S.C.Y.; Rimm, D.L.; Dodson, A.; Acs, B.; Badve, S.; Denkert, C.; Ellis, M.J.; Fineberg, S.; Flowers, M.; et al. Assessment of Ki67 in Breast Cancer: Updated Recommendations From the International Ki67 in Breast Cancer Working Group. *J. Natl. Cancer Inst.* **2021**, *113*, 808–819. [[CrossRef](#)]
21. Cardoso, F.; Paluch-Shimon, S.; Senkus, E.; Curigliano, G.; Aapro, M.S.; Andre, F.; Barrios, C.H.; Bergh, J.; Bhattacharyya, G.S.; Biganzoli, L.; et al. 5th ESO-ESMO international consensus guidelines for advanced breast cancer (ABC 5). *Ann. Oncol.* **2020**, *31*, 1623–1649. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Wolff, A.C.; Hammond, M.E.H.; Allison, K.H.; Harvey, B.E.; Mangu, P.B.; Bartlett, J.M.S.; Bilous, M.; Ellis, I.O.; Fitzgibbons, P.; Hanna, W.; et al. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **2018**, *142*, 1364–1382. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Aitken, S.J.; Thomas, J.S.; Langdon, S.P.; Harrison, D.J.; Faratian, D. Quantitative analysis of changes in ER, PR and HER2 expression in primary breast cancer and paired nodal metastases. *Ann. Oncol.* **2010**, *21*, 1254–1261. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Yao, Z.X.; Lu, L.J.; Wang, R.J.; Jin, L.B.; Liu, S.C.; Li, H.Y.; Ren, G.S.; Wu, K.N.; Wang, D.L.; Kong, L.Q. Discordance and clinical significance of ER, PR, and HER2 status between primary breast cancer and synchronous axillary lymph node metastasis. *Med. Oncol.* **2014**, *31*, 798. [[CrossRef](#)]

25. El Nemr Esmail, R.S.; El Farouk Abdel-Salam, L.O.; Abd El Ellah, M.M. Could the Breast Prognostic Biomarker Status Change During Disease Progression? An Immunohistochemical Comparison between Primary Tumors and Synchronous Nodal Metastasis. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* **2015**, *16*, 4317–4321. [[CrossRef](#)]
26. Falck, A.K.; Ferno, M.; Bendahl, P.O.; Ryden, L. Does analysis of biomarkers in tumor cells in lymph node metastases give additional prognostic information in primary breast cancer? *World J. Surg.* **2010**, *34*, 1434–1441. [[CrossRef](#)]
27. Kinoe, H.; Yamanouchi, K.; Kuba, S.; Morita, M.; Sakimura, C.; Kanetaka, K.; Takatsuki, M.; Abe, K.; Yano, H.; Matsumoto, M.; et al. Discordance of hormone receptor, human epidermal growth factor receptor-2, and Ki-67 between primary breast cancer and synchronous axillary lymph node metastasis. *J. BUON* **2018**, *23*, 60–66.
28. Zhao, S.; Xu, L.; Liu, W.; Lv, C.; Zhang, K.; Gao, H.; Wang, J.; Ma, R. Comparison of the expression of prognostic biomarkers between primary tumor and axillary lymph node metastases in breast cancer. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* **2015**, *8*, 5744–5748.
29. Aktas, B.; Kasimir-Bauer, S.; Muller, V.; Janni, W.; Fehm, T.; Wallwiener, D.; Pantel, K.; Tewes, M.; Group, D.S. Comparison of the HER2, estrogen and progesterone receptor expression profile of primary tumor, metastases and circulating tumor cells in metastatic breast cancer patients. *BMC Cancer* **2016**, *16*, 522. [[CrossRef](#)]
30. Aurilio, G.; Disalvatore, D.; Pruneri, G.; Bagnardi, V.; Viale, G.; Curigliano, G.; Adamoli, L.; Munzone, E.; Sciandivasci, A.; De Vita, F.; et al. A meta-analysis of oestrogen receptor, progesterone receptor and human epidermal growth factor receptor 2 discordance between primary breast cancer and metastases. *Eur. J. Cancer* **2014**, *50*, 277–289. [[CrossRef](#)]
31. De Duenas, E.M.; Hernandez, A.L.; Zotano, A.G.; Carrion, R.M.; Lopez-Muniz, J.L.; Novoa, S.A.; Rodriguez, A.L.; Fidalgo, J.A.; Lozano, J.F.; Gasion, O.B.; et al. Prospective evaluation of the conversion rate in the receptor status between primary breast cancer and metastasis: Results from the GEICAM 2009-03 ConvertHER study. *Breast Cancer Res. Treat.* **2014**, *143*, 507–515. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Talmadge, J.E. Clonal selection of metastasis within the life history of a tumor. *Cancer Res.* **2007**, *67*, 11471–11475. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Almendro, V.; Fuster, G. Heterogeneity of breast cancer: Etiology and clinical relevance. *Clin. Transl. Oncol.* **2011**, *13*, 767–773. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Torres, L.; Ribeiro, F.R.; Pandis, N.; Andersen, J.A.; Heim, S.; Teixeira, M.R. Intratumor genomic heterogeneity in breast cancer with clonal divergence between primary carcinomas and lymph node metastases. *Breast Cancer Res. Treat.* **2007**, *102*, 143–155. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Anders, C.K.; Hsu, D.S.; Broadwater, G.; Acharya, C.R.; Foekens, J.A.; Zhang, Y.; Wang, Y.; Marcom, P.K.; Marks, J.R.; Febbo, P.G.; et al. Young age at diagnosis correlates with worse prognosis and defines a subset of breast cancers with shared patterns of gene expression. *J. Clin. Oncol.* **2008**, *26*, 3324–3330. [[CrossRef](#)]
36. Kennecke, H.; Yerushalmi, R.; Woods, R.; Cheang, M.C.; Voduc, D.; Speers, C.H.; Nielsen, T.O.; Gelmon, K. Metastatic behavior of breast cancer subtypes. *J. Clin. Oncol.* **2010**, *28*, 3271–3277. [[CrossRef](#)]
37. Curigliano, G.; Bagnardi, V.; Viale, G.; Fumagalli, L.; Rotmensz, N.; Aurilio, G.; Locatelli, M.; Pruneri, G.; Giudici, S.; Bellomi, M.; et al. Should liver metastases of breast cancer be biopsied to improve treatment choice? *Ann. Oncol.* **2011**, *22*, 2227–2233. [[CrossRef](#)]
38. Martelotto, L.G.; Ng, C.K.; Piscuoglio, S.; Weigelt, B.; Reis-Filho, J.S. Breast cancer intra-tumor heterogeneity. *Breast Cancer Res.* **2014**, *16*, 210. [[CrossRef](#)]
39. Marusyk, A.; Almendro, V.; Polyak, K. Intra-tumour heterogeneity: A looking glass for cancer? *Nat. Rev. Cancer* **2012**, *12*, 323–334. [[CrossRef](#)]
40. Wahl, G.M.; Spike, B.T. Cell state plasticity, stem cells, EMT, and the generation of intra-tumoral heterogeneity. *NPJ Breast Cancer* **2017**, *3*, 14. [[CrossRef](#)]
41. Turashvili, G.; Brogi, E. Tumor Heterogeneity in Breast Cancer. *Front. Med.* **2017**, *4*, 227. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Seol, H.; Lee, H.J.; Choi, Y.; Lee, H.E.; Kim, Y.J.; Kim, J.H.; Kang, E.; Kim, S.W.; Park, S.Y. Intratumoral heterogeneity of HER2 gene amplification in breast cancer: Its clinicopathological significance. *Mod. Pathol.* **2012**, *25*, 938–948. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

3. Zusammenfassung der Arbeit

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. med.

Vergleich von HER2-, Östrogen- und Progesteron Rezeptor-Profilen bei Patienten mit primärem Mammakarzinom und synchroner axillärer Lymphknotenmetastase

eingereicht von

Laura Christina Weydandt

angefertigt an

der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde des Universitätsklinikums Leipzig

betreut von

Prof. Dr. med. Bahriye Aktas

08/2022

3.1 Fragestellung

Die grundlegenden Therapieentscheidung der primären Mammakarzinom-Erkrankung beruhen auf Bestimmung des Östrogen- (ER) / Progesteron- (PR) und HER2-Rezeptorprofils. Dabei werden diese bei Diagnosestellung anhand von Gewebsmaterial des Primärtumors, welches üblicherweise in Form einer Stanzbiopsie gewonnen wird, immunhistochemisch bestimmt. Anhand dieses Rezeptorprofils erfolgt die Festlegung des primären Therapieregimes.

Es konnte jedoch gezeigt werden, dass das Rezeptorprofil sich im Verlaufe einer Erkrankung ändern kann. Diese Erkenntnis beruht auf verschiedenen Studien, die Rezeptorprofile zwischen Primärtumoren und Fernmetastasen verglichen haben [49]. Dies hat zu einer Berücksichtigung in den sowohl deutschen, als auch internationalen Mammakarzinom-Leitlinien geführt, die mittlerweile die erneute Gewinnung von Gewebsmaterial und Neubestimmung des Rezeptorprofils im Falle einer Metastasierung empfehlen [48] .

Diese Empfehlungen beziehen sich jedoch bislang ausschließlich auf die metastasierte- oder Rezidiv-Situation der Erkrankung. Es wird selten in Erwägung gezogen, dass es bereits in der

Primärsituation zu Unterschieden und Änderungen im Rezeptorprofil zwischen Primärtumor und simultaner, axillärer Lymphknotenmetastase kommen kann. Bislang erfolgt im Falle einer axillären Metastasierung noch keine routinemäßige Bestimmung des Rezeptorprofils.

Kommt es zu Unterschieden des Rezeptorprofils zwischen Primärtumor und simultaner Lymphknotenmetastase, handelt es sich aufgrund mangelhafter Datenlage noch um Einzelfallentscheidungen, inwieweit die weitere Therapie bei einem Rezeptorzugewinn oder -verlust angepasst wird. Dabei muss hier grundsätzlich abgewogen werden, ob der Patientin eine Übertherapie zugemutet, oder eine zusätzliche Therapie vorenthalten werden kann.

Das Ziel dieser Arbeit war ein Vergleich der ER, PR und HER2-Rezeptorprofile zwischen Primärtumor und synchroner, axillärer Lymphknotenmetastase zum Zeitpunkt der primären Mammakarzinom-Erkrankung.

3.2 Patienten und Methoden

In der retrospektiven Analyse konnten insgesamt 215 Patienten eingeschlossen werden, die im Zeitraum von 2008 bis 2020 an der Frauenklinik des Universitätsklinikum Leipzig aufgrund einer primären Mammakarzinom Erkrankung operiert wurden (Ethikvotum Nr. 181/20-ek). Es wurden nur Patienten eingeschlossen, bei denen mindestens eine axilläre Lymphknotenmetastase (LNM) nachgewiesen wurde und von der ausreichend archiviertes Gewebe vorhanden war. Das Tumorgewebe der LNM wurde neu aufgearbeitet und immunhistochemische Färbungen für ER, PR, HER2 und Ki67 angefertigt.

Die mikroskopische Auswertung der Immunhistochemie erfolgte durch einen erfahrenen Pathologen anhand der international gültigen ASCO/CAP Richtlinien [17, 21]. Dabei erfolgte die Angabe positiver Tumorzellkerne für ER und PR in Prozenten. Die Auswertung erfolgte zudem anhand der unterschiedlichen Grenzwerte $\geq 1\%$ und $\geq 10\%$. Bei dem Nachweis von $\geq 1\%$ (bzw. in der zweiten Gruppe $\geq 10\%$) positiver Tumorzellkerne wurden ER und PR als positiv gewertet. Wurden $< 1\%$ (bzw. in der zweiten Gruppe $< 10\%$) positive Tumorzellkerne nachgewiesen, wurden ER und PR als negativ gewertet.

Für HER2 erfolgte die Klassifizierung anhand der Färbemuster, 3+ (wenn eine starke komplette Membranfärbung von 30% der Tumorzellen vorlag), 2+ (bei schwacher/moderater Färbung von mindestens 10% der Tumorzellen), 1+ (bei schwacher, inkompletter Färbung von $< 10\%$ der Tumorzellen) und 0 (keinerlei Färbung von Tumorzellen). Bei 3+ wurde der HER2-Rezeptor als positiv, bei 1+ und 0 als negativ gewertet. Im Falle einer 2+ Klassifizierung wurde eine chromogene in situ-Hybridisierung (CISH) durchgeführt. Bei negativem CISH Ergebnis wurde der HER2-Rezeptor als negativ klassifiziert. Die Einteilung der Stanzbiopsien des

Primärtumors (t-CNB) und der LNM in intrinsische Subtypen erfolgte anschließend anhand der immunhistochemischen Daten, sowie des Ki67-Proliferationsmarkers analog der St.-Gallen-Kriterien [27].

Patienten-Eigenschaften wie Alter, Tumorgöße, Tumordifferenzierung und histologischer Subtyp wurden anhand der klinikinternen Dokumentation ermittelt. Abschließend wurden alle Informationen und Originalbefunde der Rezeptorprofile der initial durchgeführten t-CNB, sowie der neu erhobenen Rezeptorprofile der axillären LNM tabellarisch erfasst und ausgewertet.

3.3 Ergebnisse

3.3.1 Patientenkollektiv

In die Analyse wurden insgesamt 215 Patienten eingeschlossen. Der Altersmedian aller Patienten betrug 61 Jahre. 118 (54,9%) Patienten erhielten im Rahmen ihrer Operation eine SLNB, 97 (45,1%) Patienten erhielten den ausgedehnteren Eingriff einer ALND. Zum Zeitpunkt der Operation waren 149 (69,3%) der Patienten therapienaiv und hatten keine neoadjuvante Therapie erhalten, 46 (21,4%) Patienten hatten eine neoadjuvante Chemotherapie und 20 (9,3%) der Patienten hatten eine neoadjuvante endokrine Therapie erhalten.

Es konnten insgesamt 215 Stanzbiopsien des Primärtumors (t-CNB) und 211 dazugehörige Lymphknotenmetastasen (LNM) analysiert werden. Vier LNM konnten aufgrund von nicht ausreichendem Resttumormaterial nicht analysiert werden.

3.3.2 Anwendung der unterschiedlichen Grenzwerte ($\geq 1\%$ vs. $\geq 10\%$)

Im Vergleich der zwei unterschiedlichen Grenzwerte ($\geq 1\%$ vs. $\geq 10\%$) konnten keine wesentlichen Änderungen bezüglich des ER-Rezeptors festgestellt werden. In der Gruppe der t-CNBs lag die ER-Rezeptor-Positivrate bei 83,7% ($\geq 1\%$) vs. 83,3% ($\geq 10\%$). Auch in der Gruppe der LNM war die ER-Rezeptor-Positivrate mit 78,1% ($\geq 1\%$) vs. 76,7% ($\geq 10\%$) sehr ähnlich.

Bei Anwendung der unterschiedlichen Grenzwerte beim PR-Rezeptor kam es zu einem Anstieg der Positivrate um 6% (153 vs. 166 PR-Rezeptor-Positivrate) in der Gruppe der t-CNB. Bei den LNM erfolgte eine signifikante Steigerung der PR-Rezeptor-Positivrate um jeweils 12,6% (105 vs. 132 PR-positive Rezeptoren, $p < 0,001$).

3.3.3 Änderungsraten

Mit den verschiedenen Grenzwerten von jeweils $\geq 1\%$ oder $\geq 10\%$ betrug die prozentuellen Änderungsraten zwischen t-CNB und axillärer LNM insgesamt 6% (n=13/215) für ER, 20% (n=43/215) für PR und 12,1% (n =26/215) für HER2 bei Anwendung des $\geq 1\%$ -Grenzwerts. Bei Anwendung des $\geq 10\%$ -Grenzwerts betrug die Änderungen 7% (n=15/215) für ER, 26,5% (n=57/215) für PR, und 12,1% (n=26/215) für HER2.

3.3.4 Rezeptorverluste und -zugewinne

Insgesamt kam es zu 13 Rezeptorzugewinnen (6%) und 69 Rezeptorverlusten (32,1%) zwischen t-CNB und LNM bei Anwendung des $\geq 1\%$ -Grenzwertes. Mit Anwendung des $\geq 10\%$ -Grenzwertes kam es zu ebenfalls 13 Rezeptorzugewinnen (6%) und einer Erhöhung der Gesamtanzahl an Rezeptorverlusten auf insgesamt 85 (39,5%). Die häufigste Änderung stellte mit 51 Rezeptorverlusten (23,7%) der Verlust eines PR-Rezeptors dar.

3.3.5 Analyse der intrinsischen Subtypen

Im deskriptiven Vergleich der intrinsischen Subtypen zwischen t-CNB und LNM kam es vor allem durch den Abfall von Ki67 bei den LNM, zu einem Anstieg der Luminal A-Tumore von 41,4% auf 50,2%. Zudem konnte ein Abfall der Luminal B / HER2-positiven Tumore um 4,6%, ein Abfall der Luminal B / HER2-negativen Tumore um insgesamt 7%, sowie ein Abfall des HER2-angereicherten Subtypens um 2,8% beobachtet werden. In der Gruppe der Triple-negativen Subtypen kam es durch Rezeptorverluste zu einem Anstieg um 5,6% in der Gruppe der LNM.

3.3.6 Korrelationsanalyse

Kompetitive Analysen ergaben, dass Änderungen des ER-Rezeptors mit einem erhöhten Ki67-Wert einhergingen (Median: 40% vs. 10% in den Gruppen mit vs. ohne Rezeptoränderung). Zudem traten Änderungen des ER-Rezeptors signifikant häufiger ($p < 0.01$) bei etwas jüngeren Patienten auf (Median: 53 vs. 62 Jahre in den Gruppen mit vs. ohne Rezeptoränderungen).

Es konnten insgesamt keine signifikanten Korrelationen zwischen Änderungen von ER, PR oder HER2 und möglichen Vortherapien (keine Therapie, NACT oder endokrine Therapie) beobachtet werden.

3.4 Schlussfolgerung

Insgesamt konnte mit 12,1% für HER2, 6% für ER and 20% für PR (Grenzwert $\geq 1\%$) eine hohe Änderungsrate für alle drei Rezeptoren nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse ähneln den in der Literatur bereits beschriebenen Änderungsraten für die metastasierte oder Rezidivsituation beim Mammakarzinom [56]. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit legen jedoch nahe, dass es bereits in der Primärsituation zu Änderungen im Rezeptorprofil kommen kann. Hierbei ist hervorzuheben, dass der Großteil (69%) der Patienten therapienaiv war und zum Zeitpunkt der t-CNB und anschließenden Operation keine neoadjuvante Therapie erhalten hatte. Mögliche Theorien, dass Rezeptoränderungen durch Therapien verursacht werden, konnten somit nicht bestätigt werden [57].

Als mögliche Erklärung für Rezeptoränderungen zwischen Primärtumor und LNM dient die Theorie der klonalen Selektionstheorie. Diese beinhaltet, dass ein Primärtumor aus verschiedenen Subpopulationen besteht, wovon einzelne Subtypen auswandern und Metastasen mit unterschiedlichen Phänotypen ausbilden können [58]. Eine weitere mögliche Erklärung für unsere Ergebnisse ist die Theorie der intratumoralen Heterogenität. Diese besagt, dass es in einem Tumor verschiedene Areale mit unterschiedlicher Histomorphologie geben kann. Eine Gewebprobe von einer einzigen Lokalisation, kann somit nicht den vollständigen Tumor in seiner Heterogenität abbilden [59]. Somit lassen sich Unterschiede zwischen Stanzbiopsie, bei der nur eine sehr kleine Gewebsmenge für immunhistochemische Analysen gewonnen werden kann, und postoperativ verfügbaren, größeren Mengen an aufgearbeitetem Tumorgewebe erklären.

Hierbei ist wichtig hervorzuheben, dass Rezeptorwechsel zwischen Primärtumor und Metastase einen wichtigen Aspekt bezüglich Prognose und Krankheitsverlauf darstellen können. Andere Arbeitsgruppen konnten bereits ein schlechteres krankheitsfreies Überleben für Patienten mit unterschiedlichen Rezeptorprofilen zeigen [54].

Da es sich bei unserer Arbeit um eine retrospektive Analyse handelt, erfolgte keine Anpassung der Therapie im Falle einer Rezeptoränderung. Hierbei ist vor allem die Gruppe der Patienten interessant, die einen Rezeptor-Zugewinn hatten, da davon auszugehen ist, dass diese Patienten eine Untertherapie erhalten haben. Besonders die Gruppe der Patienten mit einem Zugewinn des HER2-Rezeptors hätte höchstwahrscheinlich von einer zielgerichteten Antikörpertherapie profitiert.

Schlussfolgernd lässt sich festhalten, dass Änderungen des Rezeptorprofils regelmäßig, bereits in der Primärsituation einer Mammakarzinom-Erkrankung vorkommen, und im Rahmen der personalisierten und individuellen Therapieentscheidung Berücksichtigung finden sollten. Die Bestimmung des Rezeptorprofils der Lymphknotenmetastase sollte standardmäßig erfolgen, um die Heterogenität einer Tumorerkrankung zu erfassen und die Gefahr einer Unter- bzw. Übertherapie zu minimieren. Es sind weitere Studien mit größeren Patientenkollektiven notwendig, um diese Ergebnisse zu validieren und den Nutzen des axillären Rezeptorprofils hinsichtlich einer Therapieanpassung für Patienten zu evaluieren.

4. Literaturverzeichnis

1. Cooper, W., The history of the radical mastectomy. *Ann Med Hist*, 1941. 3: p. 36–54.
2. van Middendorp, J.J., G.M. Sanchez, and A.L. Burrige, The Edwin Smith papyrus: a clinical reappraisal of the oldest known document on spinal injuries. *Eur Spine J*, 2010. 19(11): p. 1815-23.
3. Sudhakar, A., History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. *J Cancer Sci Ther*, 2009. 1(2): p. 1-4.
4. Ades, F., K. Tryfonidis, and D. Zardavas, The past and future of breast cancer treatment-from the papyrus to individualised treatment approaches. *Ecancermedalscience*, 2017. 11: p. 746.
5. Ekmektzoglou, K.A., et al., Breast cancer: from the earliest times through to the end of the 20th century. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2009. 145(1): p. 3-8.
6. GL, K., The radium treatment of carcinoma of the breast. *Br J Surg*, 1932. 19: p. 415–80.
7. EV Jensen, E.D., PW Jungblut, Estrogen receptors in hormone responsive tissues and tumors. In: Wissler RW, Dao TL, Wood S Jr, editors. *Endogenous factors influencing host-tumor balance*. University of Chicago Press, 1967.
8. Rossi, A., et al., Multimodal treatment in operable breast cancer: five-year results of the CMF programme. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 1981. 282(6274): p. 1427-31.
9. Bray, F., et al., Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2018. 68(6): p. 394-424.
10. Bray, F., P. McCarron, and D.M. Parkin, The changing global patterns of female breast cancer incidence and mortality. *Breast Cancer Res*, 2004. 6(6): p. 229-39.
11. Robert-Koch-Institut, Z.f.K.d., Krebs in Deutschland Kapitel 3.17. Brustdrüse, 2015/2016.
12. Interdisziplinäre S3-Leitlinie für die Früherkennung, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms. 2021; 4.4:
[Available from: https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/fileadmin/user_upload/Downloads/Leitlinien/Mammakarzinom_4_0/Version_4.4/LL_Mammakarzinom_Langversion_4.4.pdf.
13. Bolívar, A.V., et al., Ultrasound-guided core needle biopsy of non-palpable breast lesions: a prospective analysis in 204 cases. *Acta Radiol*, 2005. 46(7): p. 690-5.
14. Kalkman, S., M.W. Barentsz, and P.J. van Diest, The effects of under 6 hours of formalin fixation on hormone receptor and HER2 expression in invasive breast cancer: a systematic review. *Am J Clin Pathol*, 2014. 142(1): p. 16-22.
15. Cheang, M.C., et al., Immunohistochemical detection using the new rabbit monoclonal antibody SP1 of estrogen receptor in breast cancer is superior to mouse monoclonal antibody 1D5 in predicting survival. *J Clin Oncol*, 2006. 24(36): p. 5637-44.

16. Hammond, M.E., et al., American society of clinical oncology/college of american pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Oncol Pract*, 2010. 6(4): p. 195-7.
17. Allison, K.H., et al., Estrogen and Progesterone Receptor Testing in Breast Cancer: ASCO/CAP Guideline Update. *J Clin Oncol*, 2020. 38(12): p. 1346-1366.
18. Remmele, W. and H.E. Stegner, [Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue]. *Pathologe*, 1987. 8(3): p. 138-40.
19. Allison, K.H., et al., Estrogen and Progesterone Receptor Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Update. *Arch Pathol Lab Med*, 2020. 144(5): p. 545-563.
20. Iwamoto, T., et al., Estrogen receptor (ER) mRNA and ER-related gene expression in breast cancers that are 1% to 10% ER-positive by immunohistochemistry. *J Clin Oncol*, 2012. 30(7): p. 729-34.
21. Wolff, A.C., et al., Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update. *Arch Pathol Lab Med*, 2018. 142(11): p. 1364-1382.
22. Luporsi, E., et al., Ki-67: level of evidence and methodological considerations for its role in the clinical management of breast cancer: analytical and critical review. *Breast Cancer Res Treat*, 2012. 132(3): p. 895-915.
23. Mengel, M., et al., Inter-laboratory and inter-observer reproducibility of immunohistochemical assessment of the Ki-67 labelling index in a large multi-centre trial. *J Pathol*, 2002. 198(3): p. 292-9.
24. Dowsett, M., et al., Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer working group. *J Natl Cancer Inst*, 2011. 103(22): p. 1656-64.
25. Nielsen, T.O., et al., Assessment of Ki67 in Breast Cancer: Updated Recommendations From the International Ki67 in Breast Cancer Working Group. *J Natl Cancer Inst*, 2021. 113(7): p. 808-819.
26. Brierley, J.D., M.K. Gospodarowicz, and C. Wittekind, *TNM Classification of Malignant Tumours*. 8th ed. 2017: Wiley-Blackwell.
27. Goldhirsch, A., et al., Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol*, 2013. 24(9): p. 2206-23.
28. Burstein, H.J., et al., Customizing local and systemic therapies for women with early breast cancer: the St. Gallen International Consensus Guidelines for treatment of early breast cancer 2021. *Ann Oncol*, 2021. 32(10): p. 1216-1235.
29. Vasconcelos, I., et al., The St. Gallen surrogate classification for breast cancer subtypes successfully predicts tumor presenting features, nodal involvement, recurrence patterns and disease free survival. *Breast*, 2016. 29: p. 181-5.
30. Moran, M.S., et al., Society of Surgical Oncology-American Society for Radiation Oncology consensus guideline on margins for breast-conserving surgery with whole-breast

irradiation in stages I and II invasive breast cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2014. 88(3): p. 553-64.

31. Fisher, B., et al., Twenty-year follow-up of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer. *N Engl J Med*, 2002. 347(16): p. 1233-41.
32. Kaufmann, M., et al., Locoregional treatment of primary breast cancer: consensus recommendations from an International Expert Panel. *Cancer*, 2010. 116(5): p. 1184-91.
33. Kaufmann, M., et al., Recommendations from an international consensus conference on the current status and future of neoadjuvant systemic therapy in primary breast cancer. *Ann Surg Oncol*, 2012. 19(5): p. 1508-16.
34. Cullinane, C., et al., Optimal timing of surgery following breast cancer neoadjuvant chemotherapy: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Surg Oncol*, 2021. 47(7): p. 1507-1513.
35. Giuliano, A.E., et al., Prospective observational study of sentinel lymphadenectomy without further axillary dissection in patients with sentinel node-negative breast cancer. *J Clin Oncol*, 2000. 18(13): p. 2553-9.
36. Geng, C., et al., The Feasibility and Accuracy of Sentinel Lymph Node Biopsy in Initially Clinically Node-Negative Breast Cancer after Neoadjuvant Chemotherapy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*, 2016. 11(9): p. e0162605.
37. Brackstone, M., et al., Management of the Axilla in Early-Stage Breast Cancer: Ontario Health (Cancer Care Ontario) and ASCO Guideline. *J Clin Oncol*, 2021. 39(27): p. 3056-3082.
38. Veronesi, U., et al., Sentinel lymph node biopsy and axillary dissection in breast cancer: results in a large series. *J Natl Cancer Inst*, 1999. 91(4): p. 368-73.
39. Lyman, G.H., et al., Sentinel Lymph Node Biopsy for Patients With Early-Stage Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update. *J Clin Oncol*, 2017. 35(5): p. 561-564.
40. Donker, M., et al., Radiotherapy or surgery of the axilla after a positive sentinel node in breast cancer (EORTC 10981-22023 AMAROS): a randomised, multicentre, open-label, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet Oncol*, 2014. 15(12): p. 1303-10.
41. Fisher, B., et al., Effect of preoperative chemotherapy on the outcome of women with operable breast cancer. *J Clin Oncol*, 1998. 16(8): p. 2672-85.
42. Long-term outcomes for neoadjuvant versus adjuvant chemotherapy in early breast cancer: meta-analysis of individual patient data from ten randomised trials. *Lancet Oncol*, 2018. 19(1): p. 27-39.
43. Makhoul, I. and E. Kiwan, Neoadjuvant systemic treatment of breast cancer. *J Surg Oncol*, 2011. 103(4): p. 348-57.
44. Cortazar, P., et al., Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *Lancet*, 2014. 384(9938): p. 164-72.
45. de Melo Gagliato, D., et al., Impact of Delayed Neoadjuvant Systemic Chemotherapy on Overall Survival Among Patients with Breast Cancer. *Oncologist*, 2020. 25(9): p. 749-757.

46. Lerebours, F., L. Cabel, and J.Y. Pierga, Neoadjuvant Endocrine Therapy in Breast Cancer Management: State of the Art. *Cancers (Basel)*, 2021. 13(4).
47. Madigan, L.I., P. Dinh, and J.D. Graham, Neoadjuvant endocrine therapy in locally advanced estrogen or progesterone receptor-positive breast cancer: determining the optimal endocrine agent and treatment duration in postmenopausal women-a literature review and proposed guidelines. *Breast Cancer Res*, 2020. 22(1): p. 77.
48. Cardoso, F., et al., 5th ESO-ESMO international consensus guidelines for advanced breast cancer (ABC 5). *Ann Oncol*, 2020. 31(12): p. 1623-1649.
49. Schrijver, W., et al., Receptor Conversion in Distant Breast Cancer Metastases: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*, 2018. 110(6): p. 568-580.
50. Turner, N.H. and A. Di Leo, HER2 discordance between primary and metastatic breast cancer: assessing the clinical impact. *Cancer Treat Rev*, 2013. 39(8): p. 947-57.
51. Houssami, N., et al., HER2 discordance between primary breast cancer and its paired metastasis: tumor biology or test artefact? Insights through meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat*, 2011. 129(3): p. 659-74.
52. Aurilio, G., et al., A meta-analysis of oestrogen receptor, progesterone receptor and human epidermal growth factor receptor 2 discordance between primary breast cancer and metastases. *Eur J Cancer*, 2014. 50(2): p. 277-89.
53. de Duenas, E.M., et al., Prospective evaluation of the conversion rate in the receptor status between primary breast cancer and metastasis: results from the GEICAM 2009-03 ConvertHER study. *Breast Cancer Res Treat*, 2014. 143(3): p. 507-15.
54. Ba, J.L., C.G. Liu, and F. Jin, Alterations in hormonal receptor expression and HER2 status between primary breast tumors and paired nodal metastases: discordance rates and prognosis. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014. 15(21): p. 9233-9.
55. Aitken, S.J., et al., Quantitative analysis of changes in ER, PR and HER2 expression in primary breast cancer and paired nodal metastases. *Ann Oncol*, 2010. 21(6): p. 1254-61.
56. Lindstrom, L.S., et al., Clinically used breast cancer markers such as estrogen receptor, progesterone receptor, and human epidermal growth factor receptor 2 are unstable throughout tumor progression. *J Clin Oncol*, 2012. 30(21): p. 2601-8.
57. Curigliano, G., et al., Should liver metastases of breast cancer be biopsied to improve treatment choice? *Ann Oncol*, 2011. 22(10): p. 2227-33.
58. Talmadge, J.E., Clonal selection of metastasis within the life history of a tumor. *Cancer Res*, 2007. 67(24): p. 11471-5.
59. Marusyk, A., V. Almendro, and K. Polyak, Intra-tumour heterogeneity: a looking glass for cancer? *Nat Rev Cancer*, 2012. 12(5): p. 323-34.

5. Anhang

5.1 Darstellung des eigenen Beitrags

Cancers (Basel). 2022 Apr 7;14(8):1863. doi: 10.3390/cancers14081863.

Heterogeneity between Core Needle Biopsy and Synchronous Axillary Lymph Node Metastases in Early Breast Cancer Patients-A Comparison of HER2, Estrogen and Progesterone Receptor Expression Profiles during Primary Treatment Regime

Laura Weydandt¹, Ivonne Nel¹, Anne Kreklau¹, Lars-Christian Horn², Bahriye Aktas¹

Affiliations:

¹ Department of Gynecology, Medical Center, University of Leipzig, 04103 Leipzig, Germany.

² Department of Pathology, Medical Center, University of Leipzig, 04103 Leipzig, Germany.

Die Durchführung und Planung des Studienablaufs erfolgten eigenständig durch die Autorin der Dissertation in Abstimmung mit Frau Professorin Bahriye Aktas (Senior Autor). Zudem erfolgte die Erstellung des Ethikantrags sowie die Auswahl und der Einschluss der Patienten in die Studie eigenständig durch die Autorin der Dissertation. Die Datenerhebung erfolgte ebenfalls durch die Autorin der Dissertation. Die labortechnischen Arbeiten im Institut für Pathologie wurden durch Frau Regina Scherling unterstützt, die immunhistochemische Auswertung erfolgte durch Professor Lars-Christian Horn. Die quantitative Datenauswertung wurde mit Unterstützung durch Herrn Dr. Florian Oehme mittels SPSS durchgeführt. Die Erstellung des Manuskripts, sowie die Verschriftlichung der Studienergebnisse erfolgte eigenständig von der Autorin der Dissertation, in Zusammenarbeit mit den aufgeführten Ko-Autoren der Publikation.

5.2 Erklärung über den wissenschaftlichen Beitrag der Promovendin

Hiermit erklären wir, Frau Dr. Ivonne Nel, Herr Prof. Dr. Lars-Christian Horn, sowie Frau Prof. Dr. Bahriye Aktas, als Mitautoren der Publikation, dass die Angaben der Promovendin der Wahrheit entsprechen. Wir schätzen den wissenschaftlichen Beitrag der Publikation als ausreichend für eine kumulative Dissertation ein.

Dr. rer. nat. Ivonne Nel		
	Datum	Unterschrift

Prof. Dr. med. Lars-Christian Horn		
	Datum	Unterschrift

Prof. Dr. med. Bahriye Aktas		
	Datum	Unterschrift

5.3 Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar eine Vergütung oder geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Die aktuellen gesetzlichen Vorgaben in Bezug auf die Zulassung der klinischen Studien, die Bestimmungen des Tierschutzgesetzes, die Bestimmungen des Gentechnikgesetzes und die allgemeinen Datenschutzbestimmungen wurden eingehalten. Ich versichere, dass ich die Regelungen der Satzung der Universität Leipzig zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis kenne und eingehalten habe.

.....
Datum

.....
Unterschrift

5.4 Lebenslauf

5.5 Verzeichnis der wissenschaftlichen Veröffentlichungen und Vorträge

Veröffentlichungen:

Arch Gynecol Obstet. 2021 Nov;304(5):1375-1376

Inversion of the uterus with placenta adherens and successful reposition

A. Dathan-Stumpf, B. Aktas, **L. Weydandt**, H. Stepan

BMJ Case Rep. 2022 Feb 8;15(2):e246318

Intrahepatic cholestasis of pregnancy resistant to both therapeutic plasma exchange and albumin dialysis

M. Lia, T. Berg, **L. Weydandt**, H. Stepan

Cancers (Basel). 2022 Apr 7;14(8):1863.

Heterogeneity between Core Needle Biopsy and Synchronous Axillary Lymph Node Metastases in Early Breast Cancer Patients-A Comparison of HER2, Estrogen and Progesterone Receptor Expression Profiles during Primary Treatment Regime.

L. Weydandt, I. Nel, A. Kreklau, L.-C. Horn, B. Aktas

Abstracts:

San Antonio Breast Cancer Symposium; December 5-9, 2017; San Antonio, Texas

Abstract PD3-02: Comparison of HER2, estrogen and progesterone receptor expression profiles of primary tumor, synchronous axillary lymph node metastases and circulating tumor cells in early breast cancer patients

B Aktas, **L. Weydandt**, D Westerwick, F Mairinger, S Kasimir-Bauer, R Kimmig, K Schmid and A Bankfalvi

ESMO Breast - Annals of Oncology, Volume 30, Issue Supplement 3, May 2019.

Abstract 34P: Comparison of HER2, estrogen and progesterone receptor expression profiles of primary tumor and synchronous axillary lymph node metastases in 159 breast cancer patients - indicating tumoral heterogeneity

L. Weydandt, L.-C. Horn, B. Aktas

Senologie – Zeitschrift für Mammadiagnostik und -therapie 16(03):176-177. September 2019

Vergleich von HER2-, Östrogen- und Progesteron-Rezeptor-Profilen bei Primärtumoren mit synchroner axillärer Lymphknotenmetastase bei 159 Mammakarzinom-Patientinnen – ein Beispiel für dynamische Tumorheterogenität.

L. Weydandt, L.-C. Horn, B. Aktas

San Antonio Breast Cancer Symposium; December 10-14, 2019; San Antonio, Texas

Abstract P4-06-06: Comparison of HER2, estrogen and progesterone receptor expression profiles of primary tumor and synchronous axillary lymph node metastases in 149 breast cancer patients - indicating tumoral heterogeneity

L. Weydandt, A. Kreklau, F. Oehme, L.-C. Horn, B. Aktas

ASCO - Journal of Clinical Oncology Volume 39, May 2021

Abstract e12565: Heterogeneity between core needle biopsy and synchronous axillary lymph node metastases in early breast cancer patients: Comparison of HER2, estrogen and progesterone receptor expression profiles during primary treatment regime.

L. Weydandt, I. Nel, A. Kreklau, L.-C. Horn, B. Aktas

ASCO - Journal of Clinical Oncology Volume 39, May 2021

Abstract e13000: Analysis of disseminated tumor cells (DTCs) in primary breast cancer patients with various molecular subtypes.

I. Nel, **L. Weydandt**, A-K. Höhn, B. Aktas

San Antonio Breast Cancer Symposium; December 7-10, 2021; San Antonio, Texas

Abstract P1-03-01: Heterogeneity between core needle biopsy and primary tumor tissue in early breast cancer patients: Comparison of intrinsic subtypes after different treatment regimes.

L. Weydandt, I. Nel, A. Kreklau, L.-C. Horn, B. Aktas

Poster:

Deutsche Gesellschaft für Senologie 38. Jahrestagung

Comparison of HER2, estrogen and progesterone receptor expression profiles of primary tumor and synchronous axillary lymph node metastases in early breast cancer patients.

B. Aktas, **L. Weydandt**, F. Mairinger, A. Bankfalvi, L.-C. Horn

Tagung der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe 2018 (DGGG)

Fulminantes Zervix Karzinom Rezidiv 6 Wochen nach TMMR mit klinischer Komplettremission auf Cisplatin, Paclitaxel und Bevacizumab.

L. Weydandt, L.-C. Horn, G. Borte, M. Höckel, B. Aktas

MGFG 13. Jahrestagung

Hysterektomie bei Uterus myomatosus als ultima ratio – muss das noch sein?

L. Weydandt, B. Aktas, N. Dornhöfer

Deutsche Gesellschaft für Senologie 39. Jahrestagung

Das exulzerierte Mammakarzinom – zwei Extremfälle aus der Praxis

L. Weydandt, A. Kreklau, S. Briest, B. Aktas

Tagung der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe 2020 (DGGG)

Seltener Nachweis eines epitheloiden Trophoblasttumors

L. Weydandt, L.-C. Horn, B. Aktas

Tagung der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe 2020 (DGGG)

Therapiemanagement von 43 Patientinnen mit abnormer invasiver Plazenta

L. Weydandt, A. Tauscher, B. Aktas, H. Stepan

Deutsche Gesellschaft für Senologie 40. Jahrestagung

Heterogeneity between core needle biopsy and synchronous axillary lymph node metastases in early breast cancer patients: Comparison of HER2, estrogen and progesterone receptor expression profiles during primary treatment regime.

L. Weydandt, I. Nel, A. Kreklau, L.-C. Horn, B. Aktas

Vorträge und Auszeichnungen:

39. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Senologie e.V., 27.- 29. Juni 2019

Klaus-Dieter-Schulz-Versorgungsforschungspreis: Comparison of HER2, estrogen and progesterone receptor expression profiles of primary tumor and synchronous axillary lymphnode metastases in 159 patients - indicating tumoral heterogeneity

L. Weydandt, L.-C. Horn, B. Aktas

Wissenschaftspreis der Mitteldeutschen Gesellschaft für Frauenheilkunde und Geburtshilfe 2021

Einflussfaktoren zur Entscheidungsfindung des operativen Vorgehens bei Patientinnen mit primärem Mammakarzinom – Brusterhaltendes Vorgehen vs. Mastektomie.

A. Kreklau & **L. Weydandt**

5.6 Danksagung

Diese Arbeit wäre niemals ohne die Unterstützung vieler Personen möglich gewesen.

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei meinen Koautorinnen und meinem Koautor bedanken. Vielen Dank an Frau Dr. Ivonne Nel für die anschließende Korrektur und Durchsicht dieser Arbeit. Zudem geht mein Dank an Frau Regina Scherling, die mich bei den Arbeiten in der Pathologie tatkräftig unterstützt hat.

Mein Dank geht an Herrn Dr. Florian Oehme für die Unterstützung und Beantwortung zahlreicher statistischer Fragen.

Zudem geht mein Dank an die Frauenpower der Gynäkologie - an meine Arbeitskolleginnen Frau PD Nadja Dornhöfer und Frau Christiane Weisgerber für die kontinuierliche moralische Unterstützung und Ermutigung.

Den zahlreichen Patienten und Patientinnen die ihr überschüssiges Tumormaterial zu wissenschaftlichen Arbeiten freigegeben, und diese Arbeit damit letztendlich ermöglichen haben, möchte ich ebenfalls danken.

Der größte Dank geht an meine Chefin, Doktormutter und Mentorin Frau Prof. Bahriye Aktas. Von den Anfängen und der Überlassung dieser interessanten Promotionsthematik bis zur endgültigen Fertigstellung konnte ich immerzu auf ihre Unterstützung zählen. Sowohl fachlich als auch menschlich ist sie eine große Inspiration und Vorbild. Sie ist immer bestrebt meinen Blick zu schärfen und meine persönliche Entwicklung voranzutreiben. Ohne ihren stetigen Glauben an mein Potential und ohne ihren kontinuierlichen Antrieb, wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.