

Aus der Abteilung Humangenetik
(Prof. Dr. med. Dr. h. c. W. Engel)
Im Zentrum Hygiene und Humangenetik
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Zur Risikokalkulation für Mutationen in den Genen *BRCA1* und
BRCA2 in Familien mit Brustkrebs**

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von
Sarah Maj Schneegans
aus Göttingen

Göttingen 2011

Dekan: Prof. Dr. med. C. Frömmel

I. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. h.c. W. Engel

II. Berichterstatterin: Prof. Dr. H. Bickeböller

III. Berichterstatter/in: Prof. Dr. rer. nat. P. Virsik- Köpp

Tag der mündlichen Prüfung: 27.06.2011

Inhalt

1.	Einleitung.....	8
1.1.	Die familiäre Brust- und Eierstockkrebserkrankung.....	8
1.2.	Ursache der hereditären Brust- und Eierstockkrebserkrankung	9
1.3.	<i>BRCA</i> - assoziierte Mammakarzinome	11
1.4.	Die Indikation zur molekulargenetischen Untersuchung.....	12
1.5.	Risikostratifizierungsprogramme.....	14
1.6.	Ziele der Arbeit.....	16
2.	Material und Methoden.....	17
2.1.	Patientenkollektiv	17
2.1.1.	Subgruppeneinteilung.....	17
2.2.	Datenbeschaffung.....	18
2.2.1.	Die Patientenakte	19
2.2.2.	Die molekulargenetische Untersuchung	19
2.2.3.	Bewertung der Ergebnisse der molekulargenetischen Untersuchungen.....	20
2.2.3.1.	Die BIC- <i>Database (Breast Cancer Information Core)</i>	20
2.2.3.2.	HGMD®- <i>Human Gene Mutation Database</i>	20
2.3.	Risikokalkulationsprogramme	21
2.3.1.	Das MYRIAD- Programm	21
2.3.2.	BRCAPRO	24
2.3.3.	BOADICEA (<i>Breast and Ovarian Analysis of Disease Incidence and Cancer Estimation Algorithm</i>).....	27
2.3.4.	Besonderheiten bei der Dateneingabe	29
2.4.	Statistische Auswertung.....	29
2.4.1.	Sensitivität/ Spezifität/ Youden Index	29
2.4.2.	RGui, Konfidenzintervalle	29
2.4.3.	SPSS, ROC- Kurve und <i>Area under the ROC</i>	30
2.4.4.	STATISTICA <i>Scatterplots</i>	30
3.	Ergebnisse.....	31

Inhaltsverzeichnis

3.1.	Das Patientenkollektiv.....	31
3.2.	Mutationen innerhalb unseres Patientenkollektivs.....	31
3.3.	Statistische Auswertung.....	36
3.3.1.	Korrelationskoeffizient	36
3.3.2.	Sensitivität und Spezifität.....	38
3.3.2.1.	Sensitivität bei einem Schwellenwert von 10%.....	38
3.3.2.2.	Sensitivität und Spezifität bei verschiedenen Schwellenwerten	39
3.3.3.	Der Youden Index.....	41
3.3.4.	ROC- Kurve und AUC (<i>Area Under the Curve</i>).....	42
3.4.	Risikokalkulationen für unterschiedliche Subgruppen	44
3.4.1.	ROC- Kurven für unterschiedliche Risikoprofile	44
3.4.2.	Risikoberechnungen bei Patienten mit einer nachgewiesenen Mutation	45
3.4.3.	Falsch negative Risikokalkulationen.....	48
3.4.4.	Patienten mit unauffälligem molekulargenetischen Befund	55
3.4.5.	Risikokalkulationen bei Patienten mit großen genomischen <i>Rearrangements</i> (Deletionen und Duplikationen)	55
4.	Diskussion	58
4.1.	Patientenkollektiv, Mutationsdetektionsrate, Mutationen	58
4.2.	Die statistische Auswertung.....	58
4.2.1.	Sensitivität und Spezifität, Youden Index, ROC und AUC.....	58
4.2.2.	Falsch negative Risikokalkulationen (errechnetes Risiko < 10% mit einer nachgewiesenen Mutation im <i>BRCA1</i> - oder <i>BRCA2</i> - Gen).....	60
4.2.3.	Falsch positive Risikokalkulationen	69
4.3.	Subgruppeneinteilung	70
4.4.	Einordnung unserer Ergebnisse in die bisher publizierten Ergebnisse verschiedener Risikokalkulationsprogramme	71
4.5.	Risikokalkulationsprogramme und große genetische <i>Rearrangements</i> (Deletionen und Duplikationen)	73
4.6.	Nutzerfreundlichkeit	74
4.6.1.	Programmeigenschaften.....	74
4.6.2.	BRCAPRO und MYRIAD	75

Inhaltsverzeichnis

4.6.3. BOADICEA, <i>Breast and Ovarian Analysis of Disease Incidence and Carrier Estimation Algorithm</i>	77
4.7. Vorgehen bei unauffälligem molekulargenetischem Untersuchungsbefund	78
5. Zusammenfassung	80
6. Literaturverzeichnis	82
7. Anhang	88
7.1. Stammbäume der Familien mit nachgewiesener Mutation	88
7.1.1. Stammbäume der Familien mit nachgewiesener Mutation in <i>BRCA1</i>	88
7.1.2. Stammbäume der Familien mit nachgewiesener Mutation in <i>BRCA2</i>	94
7.2. Stammbäume der Familien ohne nachgewiesene Mutation	96
7.3. Risikoprofil der Familien ohne nachgewiesene Mutation	119

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ALL	Akute lymphatische Leukämie
AML	Akute myeloische Leukämie
AUC	<i>Area under the curve</i>
Bds.	beidseits
BIC	Breast Cancer Information Core
BK	Brustkrebs
BOADICEA	<i>Breast and Ovarian Analysis of Disease Incidence and Cancer Estimation Algorithm</i>
bp	Basenpaare
bzw.	beziehungsweise
CI	Konfidenzintervall
CLL	Chronisch lymphatische Leukämie
del	Deletion
d.h.	das heißt
DHPLC	<i>Denaturing high-performance liquid chromatography</i>
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dup	Duplikation
et al.	et alii
etc.	et cetera
HGMD	Human Gene Mutation Database
HNPPC	<i>Hereditary Non- Polyposis Colorectal Cancer</i>
hrsg. v.	herausgegeben von
(m)	mütterlicherseits
MHz	Megahertz
MLPA	<i>Multiplex ligation dependend probe amplification</i>
MRT	Magnetresonanztomographie
OCCR	<i>Ovarian cancer cluster region</i>
o.g.	oben genannt
OK	Ovarialkarzinom, Eierstockkrebs
P	<i>Probability</i> , Wahrscheinlichkeit
Pat	Patient

Abkürzungsverzeichnis

PCR	Polymerase- Kettenreaktion
r	Korrelationskoeffizient
ROC	<i>Receiver operating characteristic</i>
S	<i>Sibling</i>
s.	siehe
Tab.	Tabelle
(v)	väterlicherseits
z.B.	zum Beispiel

Begriffserklärungen

Die AUC (*Area Under the Curve*)

Die AUC (*Area Under the Curve*) bezeichnet die Fläche unter einer Kurve, in unserem Fall der ROC- Kurve, für unser Patientenkollektiv. Sie ist ein Maß dafür, wie gut ein Test die Personen mit nachgewiesener Mutation in Patienten mit oder ohne Mutation unterscheidet. Dabei bedeutet eine AUC von 1 einen perfekten Test, während ein Wert von 0,5 bedeutet, dass nur durch Zufall unterschieden wurde.

DHPLC (*Denaturing High-Performance Liquid Chromatography*)

Die Methode der DHPLC basiert auf der Unterscheidung von Homo- und Heteroduplices. Einer DNA- Amplifizierung folgt die Zusammenlagerung der Einzelstränge zu Homo- und Heteroduplices. Durch die unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften lassen sich die entstehenden Fragmente trennen, welche in einem Chromatogramm als charakteristische Peaks erscheinen. Anschließend kann mittels visueller Auswertung ein Mutations-Vorscreening durchgeführt werden. Da mit dieser Methode nicht zwischen häufigen Polymorphismen und pathogenen Mutationen unterschieden werden kann, werden Peakmuster, die nicht eindeutig interpretierbar sind, mittels direkter Sequenzierung nachuntersucht.

Direkte Sequenzierung

Die direkte Sequenzierung ermöglicht eine exakte Darstellung der Basenabfolge einer DNA-Sequenz mittels eines modifizierten PCR Verfahrens, welches auf dem Prinzip der Didesoxymethode nach Sanger (der Kettenabbruch-Synthese) beruht.

Indexpatient

Bei einem Indexpatienten handelt es sich in der Regel um ein Familienmitglied, welches sicher an Brust- und/ oder Eierstockkrebs erkrankt ist und damit als Träger einer Mutation in Frage kommt. Die molekulargenetische Untersuchung wird beim Indexpatienten begonnen

Konfidenzintervall

Das Konfidenzintervall umschreibt einen Bereich, in dem der wahre Wert eines Parameters, in unserem Fall die Sensitivität eines Risikokalkulationsprogrammes, mit einer vorab bestimmten Wahrscheinlichkeit, dem sogenannten Konfidenzniveau, liegt. Wir wählten für das Konfidenzniveau einen Wert von 95%.

MLPA- Analyse (*Multiplex ligation dependent probe amplification*)

(Haag et al. 2005)

Die MLPA- Analyse ermöglicht es, größere Rearrangements, also Deletionen und Duplikationen, die mehr als 20 Basenpaare umfassen, zu detektieren. Diese können von anderen Verfahren, wie der direkten Sequenzierung oder der DHPLC, nicht erfasst werden. Das Prinzip dieser Methode beruht auf der Bindung sequenzspezifischer Sonden an unterschiedliche Zielsequenzen eines Gens, die nachfolgend amplifiziert werden. Die Kopienzahl der Zielsequenz wird durch simultane relative Quantifizierung bestimmt.

Die PCR-Methode:

Die PCR beruht auf dem Prinzip der zyklischen Synthese spezifischer DNA- Sequenzen. Nach der Auftrennung der DNA in Einzelstränge binden spezifische synthetische Oligonukleotid- Primer an Strang und Gegenstrang der Ziel- DNA- Sequenz. Durch ein hitzestabiles bakterielles Enzym, die Taq- Polymerase, erfolgt daraufhin die Synthese komplementärer DNA-Stränge. Ein solcher Zyklus wird 30- 40mal wiederholt, wobei die DNA- Menge exponentiell zunimmt.

ROC- Kurve

(Richter et al. 1988)

Bei der ROC- Kurve (*Receiver Operating Characteristic*) handelt es sich um ein statistisches Mittel, welches die Werte für Sensitivität und Spezifität eines diagnostischen Tests an verschiedenen Schwellenwerten gegeneinander aufträgt. Die graphische Auftragung auf eine einheitliche Skala ermöglicht es hierbei mehrere Tests miteinander zu vergleichen.

Scatterplots

Scatterplots, auch Korrelations- oder Streudiagramme genannt, stellen graphisch den Zusammenhang zweier Größen dar, in unserem Fall den Zusammenhang zwischen jeweils zwei Risikokalkulationsprogrammen.

Aus dem Diagramm lässt sich der Korrelationskoeffizient (r) bestimmen, der ein Maß für den Grad des linearen Zusammenhangs zwischen jeweils zwei Risikokalkulationsprogrammen darstellt. Der Korrelationskoeffizient kann Werte zwischen +1 und -1 annehmen, wobei ein Wert von 0 keine Korrelation beschreibt, ein Wert von +1 geht mit einer starken positiven Korrelation, ein Wert von -1 mit einer stark negativen Korrelation einher. Dabei ist folgende Einteilung wichtig:

Korrelationskoeffizient	0.0-0.2 sehr schwach bis vernachlässigbare Korrelation
	0.2-0.4 schwache, niedrige Korrelation (nicht sehr signifikant)
	0.4-0.7 moderate Korrelation

0.7-0.9 starke, hohe Korrelation

0.9-1.0 sehr starke Korrelation

Sensitivität

Testergebnis	Ergebnis der molekulargenetischen Untersuchung		
		Mutation+	Mutation-
	Positiv(> 10%)	Richtig positiv	Falsch positiv
Negativ(< 10%)	Falsch negativ	Richtig negativ	

Tab. 1 : Vierfeldertafel zur Berechnung der Sensitivität und der Spezifität

Die Sensitivität ist definiert als der Quotient aus richtig positiven Testergebnissen und der Summe aus richtig positiven und falsch negativen Testergebnissen. Dabei beschreibt sie die Wahrscheinlichkeit, mit der bei einem positiven Test auch tatsächlich eine Mutation vorliegt.

Sensitivität = $P(\text{positiver Test} \mid \text{Mutation}) = P(\text{Positiver Test und Mutation}) / P(\text{Mutation})$.

Sensitivität = $\text{Anzahl richtig positive} / (\text{Anzahl richtig positive} + \text{Anzahl falsch negative})$

Spezifität

Die Spezifität eines diagnostischen Testverfahrens gibt die Wahrscheinlichkeit an, mit der ein negativ getesteter Proband auch wirklich keine Mutation trägt.

Dabei ergibt sich die Spezifität aus dem Quotienten aus richtig negativen Testergebnissen und der Summe aus falsch positiven und richtig negativen Testergebnissen- also allen Testergebnissen, denen tatsächlich keine Mutation zugrunde lag.

Spezifität = $P(\text{negativer Test} \mid \text{keine Mutation}) = P(\text{negativer Test und keine Mutation}) / P(\text{keine Mutation})$.

Spezifität = $\text{Anzahl richtig negativer} / (\text{Anzahl richtig negative} + \text{Anzahl falsch positive})$

Youden Index

(Richter et al 1988)

Der Youden Index ist ein statistisches Mittel, um zu beschreiben, wie zuverlässig Mutationsträger und Nicht- Mutationsträger durch einen diagnostischen Test unterschieden werden. Zu seiner Berechnung werden die Werte für Sensitivität und Spezifität gleich gewichtet genutzt. Seine Werte liegen definitionsgemäß zwischen null und eins, wobei ein

Begriffserklärungen

Wert von eins einen perfekten Test widerspiegelt, da dann Sensitivität und Spezifität Werte von 100% erreichen. Demnach hat der Youden Index seinen höchsten Wert an der Stelle, an der Sensitivität und Spezifität die höchsten Werte erreichen.

Der Youden Index ist definiert als die Summe aus Sensitivität und Spezifität minus eins.

(Youden Index = Sensitivität + Spezifität - 1)

1. Einleitung

1.1. Die familiäre Brust- und Eierstockkrebserkrankung

Brustkrebs ist die häufigste Krebserkrankung der Frau in Deutschland. Jede zehnte Frau erkrankt im Laufe ihres Lebens an Brustkrebs, wobei das mittlere Erkrankungsalter bei 63 Jahren liegt (RKI 2010). Die Inzidenz ist steigend. Jährlich treten über 59.000 Neuerkrankungen an Brustkrebs auf (RKI 2010). Aber auch Männer können betroffen sein. In Deutschland werden pro Jahr etwa 400 Neuerkrankungen an männlichem Brustkrebs gezählt (Backe 2002). Brustkrebs ist ebenfalls die am häufigsten zum Tode führende Krebserkrankung bei Frauen. Mit einem Anteil von 2,1% an allen Sterbefällen und über 17.000 Sterbefällen im Jahr 2009 liegt Brustkrebs an 10. Stelle der Todesursachen in Deutschland (Statistisches Bundesamt 2009).

Brustkrebs ist eine multifaktoriell bedingte Erkrankung, und es sind verschiedene Risikofaktoren bekannt, die die Entstehung eines Mammakarzinoms begünstigen können. Dazu gehören eine frühe Menarche oder späte Menopause, Kinderlosigkeit, postmenopausale Hormonersatztherapie, postmenopausales Übergewicht, Rauchen, Alkohol und die genetische Disposition (Ortmann et al. 2008).

Der Großteil aller Brustkrebserkrankungen, ca. 70- 80%, tritt sporadisch, das heißt ohne erblichen Hintergrund auf. Charakteristisch für den sporadischen Brustkrebs sind ein höheres Erkrankungsalter und eine unauffällige Familienanamnese. Da Brustkrebs eine sehr häufige Erkrankung ist, kann es aber auch dazu kommen, dass mehrere Familienmitglieder von sporadischem Brustkrebs betroffen sind. Dann spricht man von familiärer Häufung. 10- 15% der Fälle treten familiär gehäuft auf. In diesem Fall sind mehrere Familienmitglieder von einem Brustkrebs betroffen, ohne dass eine genetische Ursache (Mutation) in der Familie existiert.

Demgegenüber sind nur etwa 5- 10% aller Brustkrebserkrankungen hereditär (Goldberg und Borgen 2006). Charakteristisch für die hereditäre Form des Brustkrebses ist ein früheres Erkrankungsalter als beim sporadischen Brustkrebs, in der Regel vor dem 50. Lebensjahr. Das Auftreten von männlichen Brustkrebsfällen sowie das Auftreten von Ovarialkarzinomen oder bilateralen Mammakarzinomen sind ebenfalls für die familiäre Brust- und Eierstockkrebserkrankung charakteristisch.

1.2. Ursache der hereditären Brust- und Eierstockkreberkrankung

Ursache der hereditären Brust- und Eierstockkreberkrankung sind Keimbahnmutationen in bestimmten Genen, die für eine Krebsentstehung disponieren.

Derzeit sind etwa zehn Syndrome bekannt, bei denen ein erhöhtes Risiko für Brust- und/oder Eierstockkrebs besteht. Die häufigste Entität ist die familiäre Brust- und Eierstockkreberkrankung. Mutationen in einem der beiden *BRCA*-Gene (*BRCA1* und *BRCA2*) stellen in 50% der Fälle die Ursache der familiären Brust- und Eierstockkreberkrankung dar. Die anderen familiären Tumorerkrankungen, bei denen ebenfalls Brust- und Eierstockkrebs auftreten kann, wie das hereditäre non-polypöse Kolonkarzinom (HNPCC), das Cowden-Syndrom oder das Li-Fraumeni-Syndrom, sind vergleichsweise selten (Kuschel et al. 2007) (Tab.1).

Tab.1: Familiäre Tumorsyndrome mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung von Brust- und/oder Eierstockkrebs. Zu jedem Tumorsyndrom sind die Gene angegeben, in denen ursächliche Mutationen bekannt sind, die das Risiko für die Entwicklung von Brust- und Eierstockkrebs sowie für weitere dem Syndrom assoziierte Tumore erhöhen.

Familiäre Tumorsyndrome	Gen	Risiko für die Entwicklung eines Brustkrebses	Risiko für die Entwicklung eines Eierstockkrebses	Assoziierte Tumore
Li-Fraumeni-Syndrom 1	<i>P53</i>	60% ¹	Nicht erhöht	Weichteilsarkom, Brustkrebs, Leukämie, Osteosarkom, Melanom, Darmkrebs, Pankreaskarzinom, Nebennierenrindentumore, Hirntumore
Li-Fraumeni-Syndrom 2	<i>CHEK2 (1100delC)</i>	3fach für Frauen 10fach für Männer ¹		Schilddrüse, Prostata, Darmkrebs, Nierenkarzinom,
Cowden-Syndrom	<i>PTEN</i>	25- 50% ²		Hamartom, Schilddrüsenkarzinom, Brustkrebs, Endometriumkarzinom
Ataxia teleangiectasia	<i>ATM</i>	30% ¹		Leukämie, Lymphome, Brustkrebs
Peutz-Jeghers-Syndrom	<i>STK1</i>	29% ³		Gastrointestinale Tumore, Brustkrebs, Eierstockkrebs, Hodentumor, Cervixkarzinom, Lungenkrebs,

				Pankreaskarzinom, Endometriumkarzinom
HNPCC	<i>MSH2, MLH1, PSM1, PSM2, MSH6, TFGBR2, MLH3</i>	gering	9%-12% ⁴	Darmkrebs, Endometriumkarzinom, Eierstockkrebs, Nierenkrebs, Leberkrebs, Magenkrebs, Dünndarmkrebs

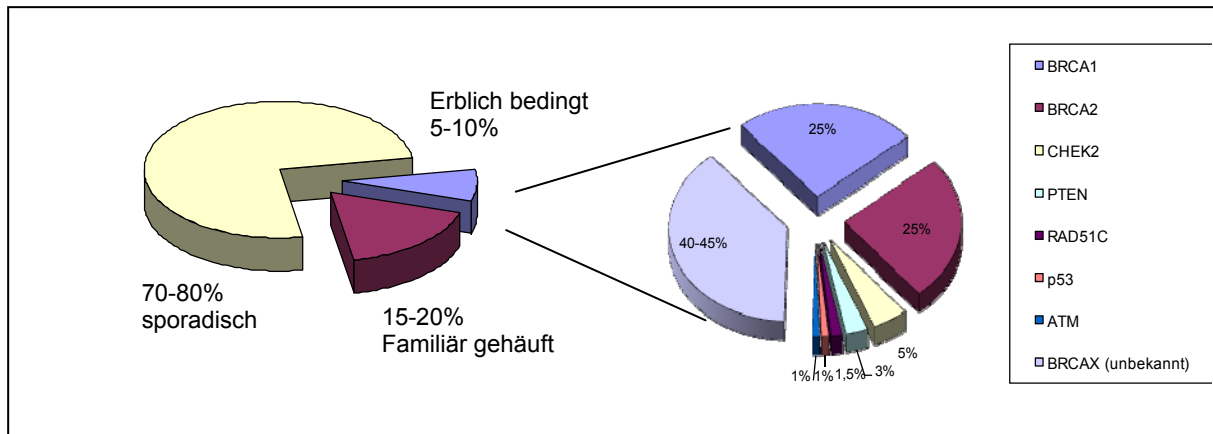
¹ (Petrucci et al. 2007); ² (Eng et al. 2009); ³ (Lim et al. 2003); ⁴ (Kohlmann und Gruber 2006)

1994 bzw. 1995 wurden die beiden Gene *BRCA1* und *BRCA2* auf den Chromosomen 17q21 bzw. 13q12.3 identifiziert (Miki et al. 1994; Wooster et al. 1995). Sie gehören zu der Gruppe der Tumorsuppressorgene und spielen eine wichtige Rolle bei der DNA- Reparatur.

Das *BRCA1*- Gen besteht aus 24 Exons, die für ein Protein kodieren, welches aus 1862 Aminosäuren besteht. Weltweit sind über 1270 pathogene Mutationen bekannt, die sich über das gesamte Gen verteilen. Das *BRCA2*- Gen besteht aus 26 Exons und kodiert für ein Protein, welches aus 3418 Aminosäuren besteht. Hier sind über 990 pathogene Mutationen bekannt, die sich über das gesamte Gen verteilen (*HGMD Professional Mutation Database 2010.3*).

Es wird angenommen, dass auch Mutationen in noch nicht bekannten Genen für die Entstehung von Brust- und Eierstockkrebs ursächlich sind (Majdak- Paredes und Fatah, 2009) (Abb.1). Kürzlich konnten in 1,3% der Familien, in denen sowohl Brust- als auch Eierstockkrebs vorkommt, Mutationen im *RAD51C* Gen auf 17q22- q23, welches auch als *BRCA3*- Gen bezeichnet wird, nachgewiesen werden (Meindl et al. 2010). In Abbildung 1 ist der Beitrag verschiedener Gene zur Entstehung des hereditären Brust- und Eierstockkrebses aufgezeigt.

Abb.1: Vorkommen und Ursachen der familiären Brust- und Eierstockkrebskrankung. 70-80% der Brustkrebsfälle sind sporadischen Ursprungs, 15- 20% treten familiär gehäuft auf und 5- 10% der Fälle sind erblich bedingt. Bei diesen ist in ca. 50% der Fälle eine ursächliche Mutation in den Genen *BRCA1* oder *BRCA2* zu finden. Weitere Gene machen einen deutlich geringeren Anteil aus: *CHEK2* (ca. 5%), *PTEN* (ca. 3%), *RAD51C* (ca. 1,5%), *p53* (ca. 1%), *ATM* (ca. 1%). In ca. 40- 45% der Fälle wird eine ursächliche Mutation in noch nicht identifizierten Genen vermutet.



(modifiziert nach Carroll et al. 2008 und Meindl et al. 2010)

1.3. *BRCA*- assoziierte Mammakarzinome

Die hereditäre Brust- und Eierstockkrebskrankung folgt einem autosomal dominanten Erbgang mit inkompletter, jedoch sehr hoher Penetranz, welche auf 60- 80% geschätzt wird (Antoniou et al. 2003). Das Risiko für die Nachkommen eines Betroffenen, die Mutation im *BRCA1*- bzw. im *BRCA2*- Gen zu erben, beträgt 50%.

In Familien mit hereditärem Krebs trägt der Risikopatient die Mutation in einer Kopie (Allel) des Gens (Keimbahnmutation). Brustkrebs tritt erst auf, wenn auch das zweite, nicht mutierte Allel inaktiviert wird bzw. verlorengeht. Man spricht dann von dem sogenannten *loss of heterozygosity* (*two-hit*- Hypothese nach Knudson), dabei wird die tumorsuppressorische Funktion des Gens aufgehoben, und es kommt zu unkontrolliertem Zellwachstum.

Trägt eine Frau eine Mutation in *BRCA1* oder *BRCA2*, so steigt ihr lebenslanges Risiko, an Brustkrebs zu erkranken, von 10% auf 60- 85%. Ebenso erhöht sich das Risiko für die Entwicklung eines Eierstockkrebses auf 20- 60% und für ein zweites bzw. bilaterales Mammakarzinom, wenn der erste Brustkrebs vor dem 50. Lebensjahr aufgetreten war, auf 40% (Metcalf et al. 2004; Schlehe und Schmutzler 2008).

Das allgemeine Risiko für Männer, an Brustkrebs zu erkranken, liegt unter 1% (Korde et al. 2010). Ist ein Mann Träger einer Mutation im *BRCA1*- oder *BRCA2*- Gen, so steigt sein lebenslanges Risiko für die Entwicklung eines Brustkrebses auf 6%.

Es wurde gezeigt, dass das individuelle Risiko, an Brust- oder Eierstockkrebs zu erkranken, auch davon abhängt, ob das *BRCA1*- oder das *BRCA2*- Gen betroffen ist. Des Weiteren ist auch die Position im Gen, an der eine Mutation auftritt, für das individuelle Erkrankungsrisiko

wichtig. Mutationen in der zentralen Region des *BRCA1*- Gens sind mit einem niedrigeren Brustkrebsrisiko behaftet als Mutationen, die sich in der 5'- und 3'- Region befinden. Träger einer Mutation in der 3'- Region des *BRCA1*- Gens haben ein geringeres Risiko, an Eierstockkrebs zu erkranken als Träger von Mutationen an anderen Positionen dieses Gens. Mutationen im zentralen Bereich des *BRCA2*- Gens sind mit einem erhöhten Eierstockkrebsrisiko assoziiert. Dieser auf Exon 11 zwischen den Nukleotiden 3035 und 6629 lokalisierte Bereich des *BRCA2*- Gens wird aus diesem Grund auch als OCCR (*Ovarian Cancer Cluster Region*) bezeichnet (Hamann et al. 2004).

Mit Mutationen in den Risikogenen gehen auch einige histopathologische Besonderheiten der Tumore einher. *BRCA1*- assoziierter Brustkrebs ist gehäuft vom medullären Subtyp mit lymphozytärer Infiltration, meist hormonrezeptornegativ, Her2neu negativ und oftmals schlecht differenziert. *BRCA2*- assoziierte Mammakarzinome zeigen demgegenüber weniger spezifische morphologische Charakteristika. Sie sind öfter hormonrezeptorpositiv und Her2neu negativ (Rebbeck et al. 2002).

Ebenfalls prädisponieren Mutationen in den *BRCA*- Genen zur Entwicklung anderer Tumore. Abhängig davon, ob das *BRCA1*- oder das *BRCA2*- Gen betroffen ist, unterscheidet sich das assoziierte Tumorspektrum. Mit einer *BRCA1*- Mutation ist ein erhöhtes Risiko für Magenkrebs, Leukämien, Nierenkarzinom, Pankreaskarzinom und Gebärmutterkrebs assoziiert (Thompson et al. 2002). Bei Trägern einer *BRCA2*- Mutation treten gehäuft Tumore der Prostata (5,2 - 7,5%), des Darms, des Magens, des Pankreas (2,2%) sowie das maligne Melanom auf (Risch et al. 2001; Thompson et al. 2001).

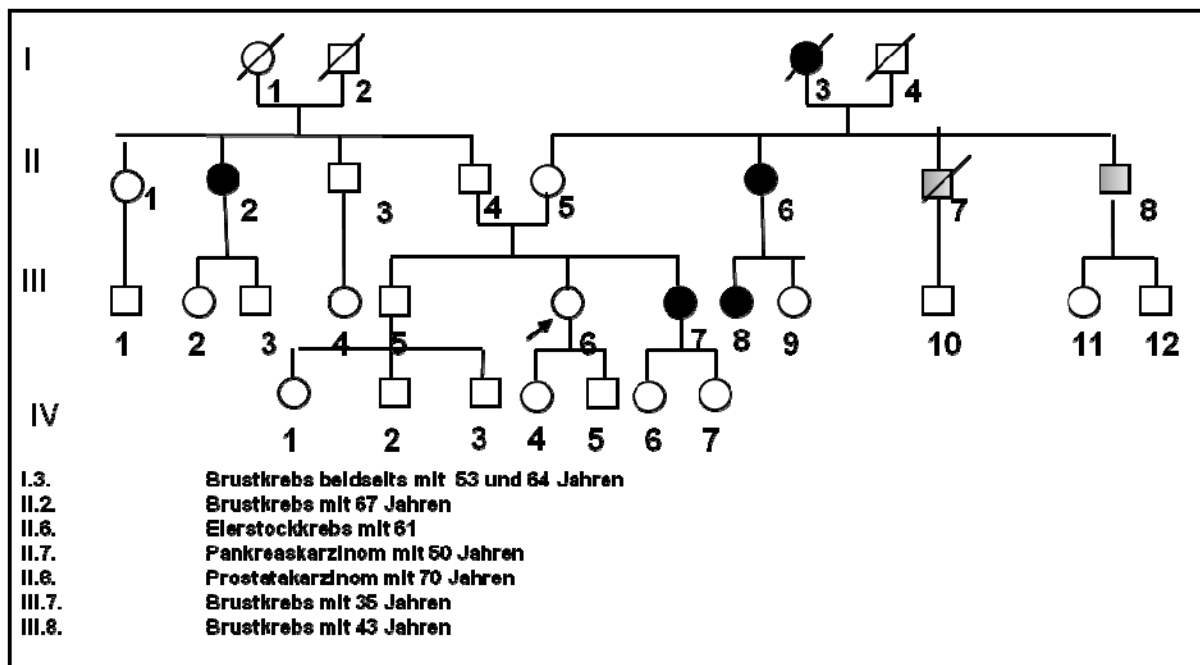
1.4. Die Indikation zur molekulargenetischen Untersuchung

Die Indikation für eine molekulargenetische Untersuchung wird im Rahmen einer Interdisziplinären Sprechstunde bzw. einer genetischen Beratung gestellt. In der Sprechstunde findet eine umfassende Aufklärung über den Vererbungsmodus des familiären Brustkrebses, das persönliche Risiko und die sich aus der molekulargenetischen Untersuchung bzw. aus der Risikoabschätzung ergebenden Konsequenzen für die Patientin statt. Auch eine psychologisch/ psychotherapeutische Beratung kann bei Bedarf in Anspruch genommen werden, um der Patientin zu helfen und psychische Probleme, welche im Zusammenhang mit einer Brustkrebserkrankung bei ihr selbst oder in ihrer Familie auftreten, besser bewältigen zu können. Zusätzlich findet eine gynäkologische Beratung bezüglich präventiver und therapeutischer Möglichkeiten für die Patientin statt.

Von einem Humangenetiker wird zusammen mit der Ratsuchenden ein drei Generationen umfassender Stammbaum erstellt. Auf Basis dessen wird das Risiko für das Vorkommen einer Mutation in der Familie eingeschätzt. In Abbildung 2 ist ein Beispiel für einen Stammbaum einer Familie mit hereditärer Brust- und Eierstockkrebserkrankung dargestellt.

Die Ratsuchende (III.6) ist gesund. Ihre Schwester ist in jungem Alter, mit 35 Jahren, an Brustkrebs erkrankt. In der mütterlichen Linie ist die Großmutter (I.3) an beidseitigem Brustkrebs mit 53 bzw. 64 Jahren erkrankt. Bei drei ihrer vier Kinder treten *BRCA*-assoziierte Tumoren auf: II.6 Eierstockkrebs mit 61 Jahren, II.7 Pankreaskarzinom mit 50 Jahren, II.8 Prostatakarzinom mit 70 Jahren. Eine Cousine, III.8 hat mit 43 Jahren einen Brustkrebs entwickelt. In väterlicher Linie ist nur ein Fall von Brustkrebs in höherem Alter verzeichnet. Hier ist eine Tante (II.2) mit 67 Jahren an Brustkrebs erkrankt.

Abb.2: Beispiel des Stammbaums einer Familie mit hereditärer Brust- und Eierstockkrebserkrankung. In der Familie kommen Brust- und Eierstockkrebs, aber auch Karzinome der Prostata und des Pankreas vor, welche ebenfalls mit Mutationen der *BRCA*-Gene assoziiert sein können.



Beim Brust- und Eierstockkrebs gibt es die Möglichkeit zur molekulargenetischen Testung. Dabei ist es wichtig festzulegen, welche Familien zur Testung geeignet sind. Bei einem Risiko von über 10% für die Trägerschaft einer Mutation wird in den deutschen Leitlinien wie auch international die genetische Testung empfohlen. Liegt das Risiko hingegen unter dem Schwellenwert von 10%, ist die molekulargenetische Diagnostik nicht indiziert.

Die Schwierigkeit liegt nun darin, mithilfe der Angaben in der Familienanamnese (Stammbaum) die Familien und Personen zu erkennen, die ein hohes Risiko für Mutationen in den Genen *BRCA1* und *BRCA2* haben, und für diese Familien und Personen eine Indikation zur molekulargenetischen Diagnostik zu stellen.

Dazu hat das Deutsche Konsortium für Familiären Brust- und Eierstockkrebs eine Leitlinie erarbeitet, bei der unter Berücksichtigung der Familienanamnese ein Risiko von 10%

zugrunde gelegt wird, Träger einer Mutation in einem Risikogen zu sein. Bislang orientiert man sich an familienanamnestischen Fakten, die insbesondere die Anzahl der von Brust- oder Eierstockkrebs betroffenen Familienmitglieder berücksichtigt. In den Leitlinien wird dabei klar definiert, bei welcher Familienkonstellation ein Risiko von 10% erreicht wird (s. Tab.2).

Tab.2: Kriterien für die Indikation zur molekulargenetischen Untersuchung (Deutsches Konsortium für Familiären Brust- und Eierstockkrebs). In den aufgeführten Fällen wird das Risiko mit 10% oder mehr beziffert.

Eine multidisziplinäre Beratung und genetische Testung soll in speziellen Zentren angeboten werden, wenn in der Familie
Mindestens 3 Frauen an Brustkrebs erkrankt sind
Mindestens 2 Frauen an Brustkrebs erkrankt sind, davon 1 vor dem 51. Lebensjahr
Mindestens 1 Frau an Brustkrebs und 1 Frau an Eierstockkrebs erkrankt sind
Mindestens 2 Frauen an Eierstockkrebs erkrankt sind
Mindestens 1 Frau an Brust- und Eierstockkrebs erkrankt ist
Mindestens 1 Frau mit 35 Jahren oder jünger an Brustkrebs erkrankt ist
Mindestens 1 Frau mit 50 Jahren oder jünger an bilateralem Brustkrebs erkrankt ist
Mindestens 1 Mann an Brustkrebs und 1 Frau an Brust- oder Eierstockkrebs erkrankt ist

(Schmutzler et al. 2008, S.57).

Im Gegensatz zu den klinischen Leitlinien, die eine grobe Abschätzung des persönlichen Risikos aufgrund empirischer Beobachtungen ohne Berücksichtigung des Verwandtschaftsgrades darstellen, wurden Risikokalkulationsprogramme erstellt, welche sich mit der Bestimmung des persönlichen Risikos der Ratsuchenden befassen, das dem Einfluss äußerer Variablen, wie z.B. Vererbungsmodus, Tumorart, Alter, etc. unterliegt. Wird für eine Person ein Risiko von mindestens 10% errechnet, so kann auch hier eine Indikation zur molekulargenetischen Diagnostik gestellt werden. Ein Vorteil gegenüber den klinischen Leitlinien stellt die Möglichkeit einiger Programme dar, die individuelle Erkrankungswahrscheinlichkeit einer Ratsuchenden zu berechnen. Da jedoch die Mutationsdetektionsrate lediglich 25% beträgt, muss trotz eines negativen Befundes der molekulargenetischen Untersuchung der Gene bei Hochrisiko- Patienten eine Empfehlung hinsichtlich engmaschiger Vorsorgeuntersuchungen und therapeutischer Vorsorgemaßnahmen gegeben werden.

1.5. Risikostratifizierungsprogramme

Es existieren mehrere verschiedene Berechnungsprogramme für die Kalkulation von Trägerwahrscheinlichkeiten von Mutationen in den *BRCA1*- und *BRCA2*- Genen. Grundsätzlich lassen sich diese Programme in genetische und empirische Modelle unterteilen, welche sich in ihrer Herangehensweise zur Bestimmung der Mutationswahrscheinlichkeiten unterscheiden (s. Tab.3).

Empirische Modelle beruhen auf den Ergebnissen molekulargenetischer Untersuchungen in bestimmten Patientenpopulationen, die mit der Krebsgeschichte der jeweiligen Familie korreliert wurden und so empirische Wahrscheinlichkeiten für Ratsuchende liefern können. Genetische Modelle hingegen berücksichtigen Vererbungsmodi der Gene, die Familienstruktur und gegebenenfalls weitere Einflussfaktoren, um das Mutationsrisiko zu modellieren (Fischer und Bickeböller 2007).

Diese Modelle existieren für die Berechnung von *BRCA1*- und *BRCA2*-Mutationsträgerschaften, es wurden jedoch auch ähnliche Modelle zur Risikostratifizierung bei anderen hereditären Krankheiten, wie zum Beispiel für HNPCC oder das familiäre Pankreaskarzinom erstellt.

Zunächst entstanden empirische Modelle wie das MYRIAD- Programm, welches seine Aussagen bezüglich des Risikos für eine Mutationsträgerschaft auf der Basis von molekulargenetischen Untersuchungsbefunden tätigt, die mit der Familienanamnese der jeweiligen Patienten verknüpft wurden.

Der Übergang zu genetischen Modellen folgte, indem immer mehr Einflussfaktoren auf die Entstehung eines Tumors in die Berechnungen des individuellen Risikos miteinbezogen wurden. Die Entwicklung führte über 1- Gen- Modelle, die nur zwischen dem Vorliegen eines normalen bzw. eines mutierten Allels unterscheiden können, über 2- Gen- Modelle, die bereits rechnerisch Gene mit dominantem Erbgang berücksichtigen. In neueren Modellen, wie beispielsweise dem BOADICEA- Programm wird zusätzlich noch eine polygene Komponente berücksichtigt. Weitere Variable, die Einfluss auf die Krebsentstehung haben und Eingang in die Berechnungen unterschiedlicher Programme gefunden haben, sind z.B. der Grad der Verwandtschaft, bis zu dem ein Familienstammbaum berücksichtigt wird, Ergebnisse bereits durchgeführter molekulargenetischer Untersuchungen oder das Vorkommen weiterer Tumorentitäten, die zum *BRCA*- Tumorspektrum gezählt werden.

Tab.3: Beispiele für Modelle zur Risikostratifizierung. Dabei erfolgt die Unterteilung in genetische und empirische Modelle.

Beispiele für Modelle zur Risikostratifizierung	
Genetische Modelle	Empirische Modelle
BOADICEA	Couch
BRCAPRO	FHAT(Ontario Family History Assessment Tool)
Claus – Modell	Manchester Score
IBIS	MYRIAD
Penn II	

Für unsere Untersuchungen wählten wir die drei Programme aus, die in vorausgegangenen Studien am besten abgeschnitten haben, nämlich das MYRIAD- Programm, das BRCAPRO- und das BOADICEA- Programm (Antoniou et al. 2008).

1.6. Ziele der Arbeit

Die Wahrscheinlichkeit, Träger einer Mutation in einem Risikogen zu sein, hat entscheidenden Einfluss auf die Indikationsstellung für die molekulargenetische Untersuchung und auf die Präventionsmaßnahmen, die für einen Patienten angestrebt werden sollten. Unser Ziel war die Validierung verschiedener Programme im Hinblick auf Zuverlässigkeit, Güte und Praktikabilität. Wir haben die Ergebnisse der drei Programme BOADICEA, BRCAPRO und MYRIAD miteinander verglichen, um dasjenige zu finden, welches am besten in den klinischen Alltag unserer Interdisziplinären Brustkrebsprechstunde integriert werden kann. Im Einzelnen:

- 1.) Überprüfung der Aussagekraft der drei Programme
- 2.) Überprüfung der Praktikabilität der Programme bezüglich der Integration in den klinischen Alltag.
- 3.) Diese Programme sind in anderen europäischen und außereuropäischen Ländern angewandt worden, und sie lieferten aufgrund der unterschiedlichen Familienstruktur und Datenarchivierung innerhalb der verschiedenen Populationen unterschiedliche Ergebnisse. In Deutschland existieren bislang keine Publikationen zu entsprechenden Risikokalkulationen. Es war unser Ziel herauszufinden, inwieweit die Programme auf unser Patientenkollektiv anwendbar sind, und unsere Ergebnisse mit Daten aus der Literatur zu vergleichen.
- 4.) Ein weiteres Ziel war zu ermitteln, welches Programm am besten geeignet ist, das Risiko von Betroffenen oder Ratsuchenden mit betroffenen erstgradigen Verwandten zu berechnen und welches sich am besten für die Risikokalkulation nicht-betroffener Personen mit unauffälliger Familienanamnese eignet.

2. Material und Methoden

2.1. Patientenkollektiv

Unsere Studie basiert auf dem Patientenkollektiv, welches im Zeitraum von 1999 bis 2009 eine humangenetische Beratung mit nachfolgender molekulargenetischer Testung in unserem Institut bzw. in der Interdisziplinären Brustkrebsprechstunde der Universitäts-Frauenklinik in Anspruch genommen hat.

Die Patienten, die in unsere Sprechstunde kommen, werden in der Regel vom Hausarzt, aber auch von Gynäkologen, Onkologen, Chirurgen oder anderen Fachärzten überwiesen oder sie melden sich direkt bei uns, wenn aufgrund der Familienkonstellation ein erblicher Hintergrund der Krankheit vermutet werden kann.

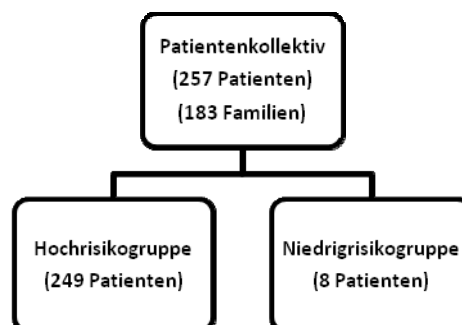
Insgesamt analysierten wir die Daten von 257 Patienten bzw. 183 Familien.

2.1.1. Subgruppeneinteilung

Unsere Patientenpopulation wurde in drei verschiedene Gruppen eingeteilt.

Die erste beinhaltet das gesamte Patientenkollektiv, das die humangenetische Beratung unserer Klinik sowie die molekulargenetische Untersuchung in Anspruch genommen hat. Diese Kohorte umfasst 257 Personen.

Dieses Patientenkollektiv unterteilten wir anschließend in zwei Subgruppen mit unterschiedlichem Risikoprofil.

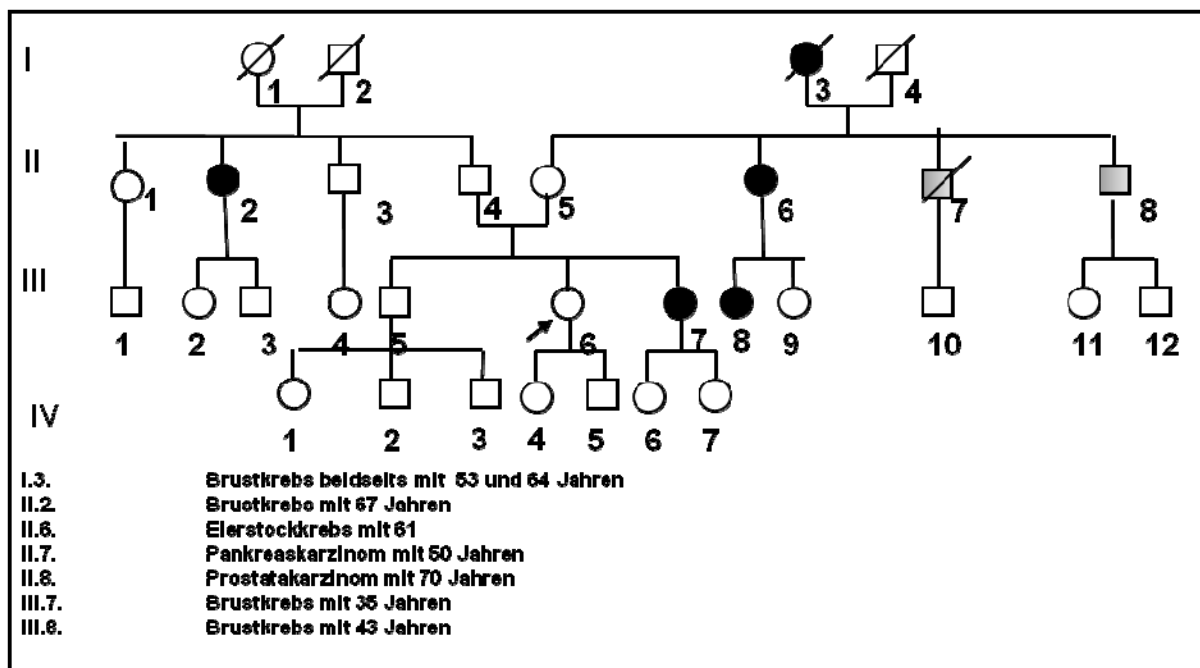


Der ersten Subgruppe wurden Personen mit einem hohen Risikoprofil zugeteilt (Hochrisikogruppe). Ein hohes Risiko definierten wir dabei für Personen, die entweder selbst von einer *BRCA*-relevanten Tumorerkrankung, in der Regel Brust- oder Eierstockkrebs, betroffen waren, oder für Personen, die mindestens einen erstgradigen Verwandten mit einer solchen Tumorerkrankung hatten. Der zweiten Subgruppe teilten wir Personen mit niedrigem Risiko zu (Niedrigrisikogruppe). Als Personen mit niedrigem Risiko definierten wir dabei

Ratsuchende, die weder selbst betroffen waren noch betroffene erstgradige Verwandte hatten. Die Hochrisikogruppe umfasst 249 Patienten, die Niedrigrisikogruppe acht.

Ziel der Auftrennung in zwei Subgruppen war es, die Diskriminierungsstärken der Programme für unterschiedliche Risikoprofile zu vergleichen. Im Folgenden wollen wir anhand eines Stammbaumbaubeispiels die Zuordnung unterschiedlicher Ratsuchender zu den oben genannten Subgruppen erklären.

Abb.3: Beispiel eines Stammbaums mit familiärer Brust- und Eierstockkreberkrankung. Anhand dieses Stammbaums wird beispielhaft die Zugehörigkeit unterschiedlicher Ratsuchender zu den von uns gewählten Subgruppen geschildert.



Zu der Hochrisikogruppe gehören am Beispiel des Stammbaums aus Abbildung 3 alle Personen der mütterlichen Linie der Familie, die selbst von einer *BRCA*-relevanten Tumorerkrankung betroffen sind: I.3. (beidseitiger Brustkrebs), II.6. (Eierstockkrebs), II.7. (Pankreaskarzinom), II.8. (Prostatakarzinom), III.7. (Brustkrebs) und III.8. (Brustkrebs) sowie deren erstgradige Verwandte (Eltern, Kinder oder Geschwister): zum Beispiel II.5., III.2., III.3., III.9., III.10., oder IV.6 und IV.7.

Zur Niedrigrisikogruppe gehören nicht betroffene Personen, deren erstgradige Verwandte ebenfalls frei von einer *BRCA*-relevanten Krebserkrankung sind. Dazu gehören in diesem Beispiel die Personen IV.1., IV.2., IV.3., IV.4. und IV.5.

2.2. Datenbeschaffung

Die Akten von 257 Patienten wurden retrospektiv ausgewertet. Dabei wurde für jeden Patienten mithilfe dreier unterschiedlicher Programme, namentlich BRCAPro, BOADICEA

und MYRIAD, auf Basis der Stammbaumkonstellation das jeweilige Risiko berechnet, Träger einer Mutation in den Genen *BRCA1* oder *BRCA2* zu sein.

Die Daten wurden anonymisiert in einer Microsoft Excel Tabelle gespeichert, welche folgende Informationen enthält: die Nummer des Ratsuchenden, die DNA- Nummer des zugehörigen Indexpatienten, die untersuchende Institution, die Veränderungen in den Genen *BRCA1* oder *BRCA2*, die Krebsanamnese der Familie und die individuelle Mutationsträgerwahrscheinlichkeit.

2.2.1. Die Patientenakte

Die Patientenakte wird von einem genetischen Berater geführt. Sie enthält die Einwilligung zur genetischen Untersuchung und einen Anamnesebogen zu Person und Familie. Die Ratsuchenden werden gebeten, tumor- und therapiebezogene Unterlagen von sich und ihren Angehörigen mit in die Sprechstunde zu bringen. Dies kann helfen, gegebenenfalls auftretende Unsicherheiten eines Patienten bezüglich seiner eigenen oder der familiären Krankengeschichte zu klären.

Erfüllt ein Patient die von den Leitlinien (s.Tab.2) vorgegebenen klinischen Kriterien für eine familiäre Brust- oder Eierstockkrebskrankung, so wird eine molekulargenetische Testung für eine sogenannte Indexpatientin in der Familie angeboten. In der Regel handelt es sich dabei um ein Familienmitglied, welches sicher an Brust- und/ oder Eierstockkrebs erkrankt ist. Wird die krankheitsverursachende Mutation bei der Indexpatientin gefunden, kann konsekutiv der Ratsuchenden eine prädiktive genetische Untersuchung auf diese Mutation angeboten werden. Ist die Ratsuchende selbst von Brustkrebs betroffen, kann direkt bei ihr mit dieser Untersuchung begonnen werden. Dabei ist die Einwilligung der zu untersuchenden Person vorausgesetzt.

2.2.2. Die molekulargenetische Untersuchung

Erst im Jahr 2005 wurde die molekulargenetische Untersuchung der *BRCA*- Gene in unserem Institut etabliert; in den Jahren zuvor wurde diese für unsere Patienten von anderen Institutionen durchgeführt (s. Tab.4). Von 1999 bis Ende 2001 übernahm das Universitätsklinikum Göttingen die Testung der *BRCA*- Gene mittels der Methode der direkten Sequenzierung. Ab 2001 bis Mitte 2005 wurde die molekulargenetische Untersuchung dann durch das Universitätsklinikum Schleswig- Holstein in Kiel mittels der DHPLC- Methode (*denaturing high-performance liquid chromatography*) durchgeführt.

Schließlich werden seit 2005 die Proben in unserem Institut (Institut für Humangenetik Göttingen) zunächst mittels DHPLC und anschließend mittels direkter Sequenzierung und nachfolgender MLPA- Analyse untersucht. Die MLPA- Analyse ermöglicht es, große *Rearrangements*, also Deletionen und Duplikationen, die mehr als 20 Basenpaare umfassen,

zu detektieren. Diese können von anderen Verfahren, wie der direkten Sequenzierung oder der DHPLC, nicht erfasst werden. Große *Rearrangements* machen 2,1% aller Mutationen im *BRCA1*- Gen aus, für das *BRCA2*- Gen stellen sie einen geringeren Anteil (Engert et al. 2008).

Die verschiedenen Untersuchungsmethoden unterscheiden sich zum einen in ihrer Praktikabilität und zum anderen in der Sensitivität, mit der Veränderungen in den Genen nachgewiesen werden können. Die Sensitivität der DHPLC- Methode liegt bei 96% (O'Donovan et al. 1998; Jones et al. 1999). Die direkte Sequenzierung ist zwar zeitaufwändiger, besitzt jedoch eine höhere Sensitivität (ca. 99%).

Tab.4: In die molekulargenetische Untersuchung eingebundene Institutionen mit Patientenzahlen.

Institution	Anzahl der Patienten
Universitätsklinikum Schleswig- Holstein, Kiel	42
Universitätsklinikum Göttingen	26
Institut für Humangenetik Göttingen	189

2.2.3. Bewertung der Ergebnisse der molekulargenetischen Untersuchungen

Es können bei der Untersuchung sogenannte unklassifizierbare Varianten (UVs) gefunden werden. Dabei handelt es sich um Veränderungen in den Genen *BRCA1* und *BRCA2*, deren Bedeutung für die Entstehung des Brustkrebses derzeit nicht geklärt ist. Wir verwendeten sowohl die BIC- *Database* als auch die HGMD zur Einordnung der gefundenen Veränderungen in die Kategorie Polymorphismus, unklassifizierbare Variante oder Mutation.

2.2.3.1. Die BIC- *Database (Breast Cancer Information Core)*

<http://research.nhgri.nih.gov/bic/>

Die BIC Database ist eine Online Datenbank, in der *BRCA1*- und *BRCA2*- Mutationen verzeichnet sind. Sie wurde vom NHGRI (*National Human Genome Research Institute*) als zentraler Speicher bekannter Polymorphismen, UVs und Mutationen der *BRCA*- Gene angelegt.

2.2.3.2. HGMD® - *Human Gene Mutation Database*

<http://www.biobase-international.com/pages/index.php?id=hgmddatabase>

Die HGMD- Datenbank der Cardiff University (England) ist ebenfalls eine Sammlung aller zur Verfügung stehenden Daten über Keimbahnmutationen, die in Verbindung mit menschlichen Krankheiten stehen. Dabei sind über 100.000 Mutationen mit Dignität, Lokalisierung und Sequenzkontext verzeichnet und mit Literatur- Referenzen verknüpft. Auch für *BRCA1* und *BRCA2* ist hier ein Mutationsverzeichnis angelegt.

2.3. Risikokalkulationsprogramme

Wie bereits unter 1.5. dargestellt, lassen sich die Programme in genetische und empirische Modelle unterteilen. Genetische Modelle errechnen das persönliche Risiko unter Berücksichtigung von Vererbungsmodi und anderen Einflussfaktoren. Sie bestimmen ein individuelles Risiko für den jeweiligen Ratsuchenden. Empirische Modelle hingegen beruhen auf Mutationsprävalenzen eines untersuchten Patientenkollektivs, das mit den Angaben zur Familiengeschichte korreliert wird. Hier wird ein empirisches Risiko erstellt.

Im Folgenden wird anhand eines Stammbaumbespiels (s. Abb.1) mit typischer Familienkonstellation für eine familiäre Brust- und Eierstockkreberkrankung die Funktionsweise der unterschiedlichen Programme erläutert.

2.3.1. Das MYRIAD- Programm

http://www.myriadtests.com/index.php?page_id=165

Das MYRIAD- Programm ist ein empirisches Modell, das sich auf einen Datensatz von molekulargenetischen Testergebnissen bezieht, der von den Myriad Genetic Laboratories (Salt Lake City, USA) im Rahmen des klinisch- genetischen Test Service erhoben wurde. Für die Erstellung des Programms wurden die Ergebnisse von 10.000 durchgeführten molekulargenetischen Untersuchungen berücksichtigt. Die Testergebnisse wurden anschließend mit dem Geschlecht und der Krebsanamnese der getesteten Personen und ihrer Familienmitglieder korreliert. Mithilfe dieser Daten wurde schließlich eine Tabelle erstellt, aus der sich das persönliche Risiko unter Berücksichtigung der Eigen- und Familienanamnese ablesen lässt (Frank et al. 2002). Die Tabelle 5 ist auf Seite 26 dargestellt.

Auf Grundlage dieser Tabelle stellt die Firma Myriad im Internet einen kurzen Fragebogen bereit (s. Tab.6), welcher anhand der Angaben zu fünf Fragen das Brustkrebsrisiko errechnet. Dieser bezieht sich auf die Anzahl von vor dem 50. Lebensjahr an Brustkrebs erkrankten Familienmitgliedern, die Anzahl von an Eierstockkrebs erkrankten Familienmitgliedern, sowie ob der Patient von Brust- oder Eierstockkrebs betroffen ist, ob männlicher Brustkrebs in der Familie vorkommt und ob die Ratsuchende von Ashkenasim-jüdischem Hintergrund ist.

Tab.6: Der MYRIAD- Test am Beispiel des Stammbaums aus Abbildung 3. Mittels fünf Fragen zur familiären Krebsgeschichte und zur Eigenanamnese des Ratsuchenden wird hier das Risiko ermittelt, Träger einer Mutation in *BRCA1* bzw. *BRCA2* zu sein.

	Patient	1 Verwandter	2+ Verwandte
Brustkrebs (Alter < 50)			X
Brustkrebs (Alter ≥ 50)			
Männlicher Brustkrebs			
Ovarialkarzinom		X	
Ashkenasim			

Exemplarisch wird die erste Zeile des MYRIAD- Tests erläutert. Gefragt wird nach dem Vorkommen von Brustkrebs vor dem 50. Lebensjahr. Die Ratsuchende der Familie aus Abbildung 3 ist gesund, hat jedoch eine Schwester (III.7) und eine Cousine, welche vor dem 50. Lebensjahr erkrankt sind, weshalb hier das Kreuz in dem Feld „2+ Verwandte“ zu setzen ist. Auf Grundlage dieser Angaben wird schließlich das Risiko für die Trägerschaft einer Mutation in *BRCA1* oder *BRCA2* ermittelt (s. auch Tab.5).

Andere Tumoren des *BRCA*- Tumorspektrums, wie z.B. ein Pankreaskarzinom eines Familienmitgliedes, werden vom MYRIAD- Programm ebensowenig berücksichtigt wie die Anzahl nicht betroffener Familienmitglieder. Auch kann nicht angegeben werden, ob es sich bei einem Brustkrebs um ein einseitiges oder beidseitiges Auftreten der Erkrankung handelt. Außerdem wird hier nicht zwischen unterschiedlichen Familienzweigen differenziert. Das Programm unterscheidet nicht, ob betroffene Familienmitglieder aus der väterlichen oder der mütterlichen Linie stammen, also unter Umständen gar nicht miteinander verwandt sind. Auch ist der Verwandtschaftsgrad, bis zu dem Betroffene berücksichtigt werden, nicht klar definiert. Das MYRIAD- Programm bestimmt ausschließlich die Wahrscheinlichkeit, Träger einer Mutation in *BRCA1* oder *BRCA2* zu sein. Es macht keine Aussage über Erkrankungswahrscheinlichkeiten.

Für die Risikokalkulationen mit MYRIAD und BRCAPRO benutzen wir die CaGene5-Software. Dieses Programm dient als *Interface* für verschiedene Kalkulationsprogramme, dabei verwendet CaGene5 die Version New Myriad.

Tab.5: Mutationsprävalenzen in *BRCA1* und *BRCA2* korrelieren mit der persönlichen und familiären Krebsanamnese (nach Frank et al. 2002)

Die Prävalenz von Mutationen in <i>BRCA1</i> und <i>BRCA2</i> (Individuen von Ashkenasim jüdischen Hintergrund ausgenommen)						
	Familienanamnese (umfasst mindestens ein erst- oder zweitgradiges Familienmitglied)					
Eigenanamnese des Ratsuchenden	Kein Brustkrebs <50 oder Eierstockkrebs in der Familie*	Brustkrebs < 50 bei einem Verwandten, kein Eierstockkrebs in der Familie	Brustkrebs <50 bei mehr als einem Familienmitglied, kein Eierstockkrebs in der Familie	Eierstockkrebs (jedes Alter) bei einem Familienmitglied, kein Brustkrebs <50 bei einem Familienmitglied	Eierstockkrebs bei mehr als einem Familienmitglied, kein Brustkrebs <50 bei einem Familienmitglied	Brustkrebs <50 und Eierstockkrebs in jedem Alter**
Kein Brust- oder Eierstockkrebs (jedes Alter)	1,5%	2,6%	5,6%	3,0%	5,3%	7,2%
Brustkrebs ≥50	2,2%	3,8%	8,0%	4,9%	9,5%	10,6%
Brustkrebs <50	4,7%	10,4%	21,2%	10,3%	21,9%	26,6%
Männlicher Brustkrebs	6,9%	17,4%	36,6%	15,9%	33,3%	28,3%
Eierstockkrebs in jedem Alter, kein Brustkrebs	7,7%	14,3%	27,4%	14,7%	22,7%	34,4%
Brustkrebs ≥50 und Eierstockkrebs in jedem Alter	12,1%	23,6%	50,0%	23,6%	44,2%	39,4%
Brustkrebs <50 und Eierstockkrebs	26,3%	40,0%	64,5%	41,2%	45,5%	57,4%
(*) Umfasst Familien, in denen (männlicher oder weiblicher) Brustkrebs ≥50 vorkommt						
(**) Umfasst Familienmitglieder mit einer oder beiden Diagnosen						

Abb.4: Mutationsträgerwahrscheinlichkeit der Ratsuchenden aus Abbildung 3 berechnet durch das MYRIAD- Programm der CaGene5- Software. Umrandet dargestellt ist das Risiko, welches das MYRIAD- Programm für die Ratsuchende aus dem Stammbaumbispiel aus Abbildung 3 bestimmt, Trägerin einer Mutation in einem der beiden *BRCA*- Gene zu sein.

XXXX
0

Save to Database
Return to Pedigree
Main Menu
Suggest a Syndrome
Syndrome Glossary
Notation
Exit

Calculation Summary Print

Mutation Probabilities

BRCA1		MLH1	
Couch	0,164	MMRpro	0,000
Shattuck-Eidens	0,123	MSH2	
BRCAPRO	0,140	MMRpro	0,000
BRCA2		MSH6	
BRCAPRO	0,107	MMRpro	0,000
Any BRCA		MLH1 or MSH2	
Myriad	0,122	MMRpro (+MSH6)	0,001
NCI CART	No Calc	Weijnen	0,000
BRCAPRO	0,247	Myriad	No Calc
		Pancreas Gene:	-0,967

Cancer Risks

	5-Year	Lifetime
Breast		
Gail	No Calc	No Calc
Claus	0,005	0,161
BRCAPRO	0,008	0,229
Ovarian	0,001	0,116
Colorectal	0,000	0,031
Endometrial	0,000	0,019
Pancreas	-0,001	-0,234

Output Manager Breast Cancer Colon Cancer Pancreas Cancer

In Abbildung 4 ist der Ergebnisbogen des CaGene5- Programmes dargestellt, welcher die Zahlen der Risikoanalyse des Stammbaumbei spiels aus Abbildung 3 zeigt. Er enthält neben den Risikowerten des MYRIAD- Programms auch die Ergebnisse anderer Risikokalkulationsmodelle (BRCAPRO, Couch, Shattuck- Eidens, NCI CART, Gail, Claus, MMRpro und Weijnen). Das von MYRIAD ermittelte Risiko (in Abbildung 4 umrandet) beträgt 12,2% für die Ratsuchende des Beispiels, Trägerin einer Mutation auf *BRCA1* oder *BRCA2* zu sein. Da MYRIAD hier ein Risiko >10% bestimmt, wird den Leitlinien zufolge der Ratsuchenden eine molekulargenetische Testung empfohlen.

2.3.2. BRCAPRO

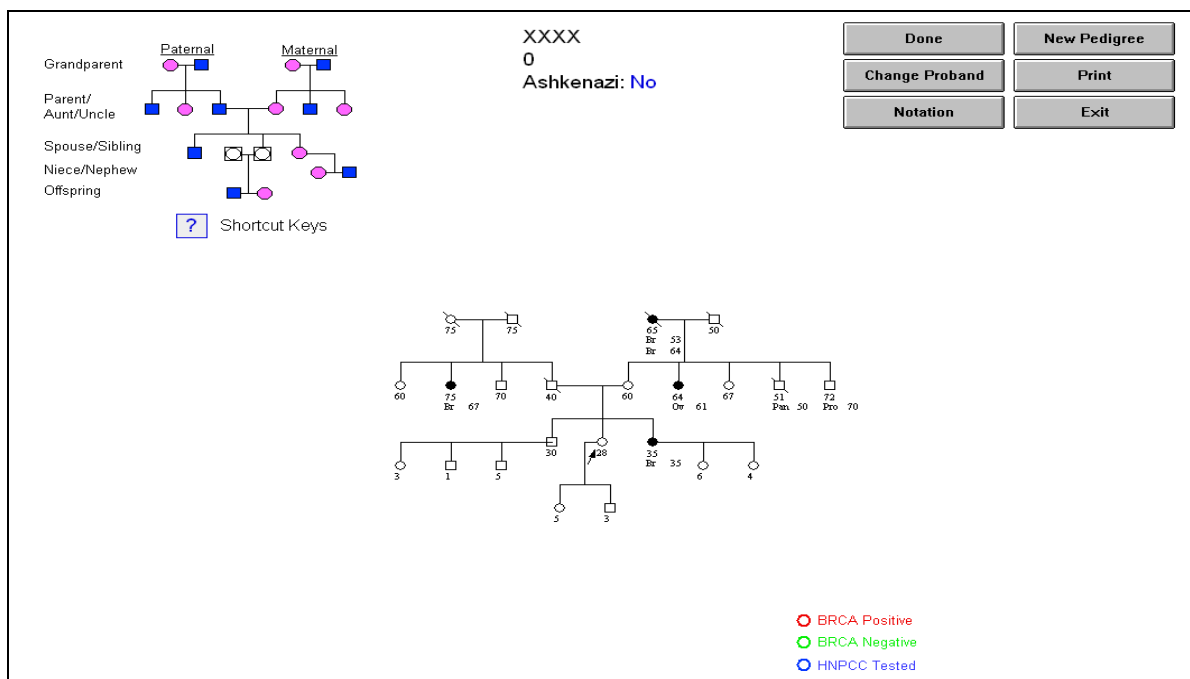
<http://www4.utsouthwestern.edu/breasthealth/cagene/>

Die Berechnungen von BRCAPRO beruhen auf der Annahme eines autosomal dominanten Erbganges zweier Gene, die für die Entstehung von Brust- und Eierstockkrebs verantwortlich sind. Unterstützt werden die Berechnungen durch die Anwendung der Bayes' Regel, welche unter den Bedingungen der jeweiligen Familiengeschichte die Wahrscheinlichkeit berechnet, Mutationsträger zu sein.

Als Erwartungswerte der Bayes' Regel dienen dabei anamnestische Daten, wie genaue Verwandtschaftsverhältnisse, betroffene und nicht betroffene Familienmitglieder, Alter bei Diagnose und aktuelle Altersangaben betroffener wie nicht- betroffener Personen sowie Untersuchungs- und Laborbefunde. Häufigkeiten für Brust- und Eierstockkrebs für Personen mit und ohne Mutation, genau wie Allelfrequenzen und altersabhängige Penetranzen werden aus verschiedenen Studien übernommen (Berry et al. 1997).

Berechnet man nun das Risiko für die Ratsuchende des Beispiels, so ergibt sich für das BRCAPRO- Programm folgender Stammbaum (s. Abb.5):

Abb.5: Stammbaumbispiel aus Abbildung 3 nach Dateneingabe in die CaGene5- Software. Die Ratsuchende ist mit einem Pfeil gekennzeichnet.



Legende: Br= breast cancer (Brustkrebs), Ov= ovarian cancer (Eierstockkrebs), Pan= pancreatic cancer (Pankreaskarzinom), Pro= cancer of the prostate gland (Prostatakarzinom).

BRCAPRO berücksichtigt den Familienstammbaum bis zum zweiten Verwandtschaftsgrad, d.h. betroffene Cousins oder Cousinen werden nicht in die Berechnungen eingeschlossen. Bereits vorab bekannte genetische Untersuchungsergebnisse fließen in die Berechnungen mit ein. Tumore, die im BRCAPRO- Programm zum BRCA- Tumorspektrum zählen, sind Brust-, Eierstock-, Darm- und Bauchspeicheldrüsenkrebs. Auch männlicher Brustkrebs sowie bilateraler oder zweizeitiger Brustkrebs gehen mit in die Berechnungen ein.

Abb.6: Mutations- und Erkrankungswahrscheinlichkeiten für die Ratsuchende aus dem Stammbaumbispiel aus Abbildung 3 berechnet mit dem BRCAPRO- Programm der CaGene5-Software. Umrandet sind die Mutationswahrscheinlichkeiten für *BRCA1* und *BRCA2* separat und gemeinsam sowie die Erkrankungswahrscheinlichkeiten für Brust- und Eierstockkrebs, kolorektales Karzinom, Endometrium- und Pankreaskarzinom.

Calculation Summary			
Mutation Probabilities			
BRCA1		MLH1	
Couch	0,164	MMRpro	0,000
Shattuck-Eidens	0,120	MSH2	
BRCAPRO	0,140	MMRpro	0,000
BRCA2		MSH6	
BRCAPRO	0,107	MMRpro	0,000
Any BRCA		MLH1 or MSH2	
Myriad	0,122	MMRpro (+MSH6)	0,001
NCI CART	No Calc	Weijnen	0,000
BRCAPRO	0,247	Myriad	No Calc
		Pancreas Gene:	-0,967
Cancer Risks			
	<u>5-Year</u>	<u>Lifetime</u>	
Breast			
Gail	No Calc	No Calc	
Claus	0,005	0,161	
BRCAPRO	0,008	0,229	
Ovarian			
	0,001	0,116	
Colorectal			
	0,000	0,031	
Endometrial			
	0,000	0,019	
Pancreas			
	-0,001	-0,234	

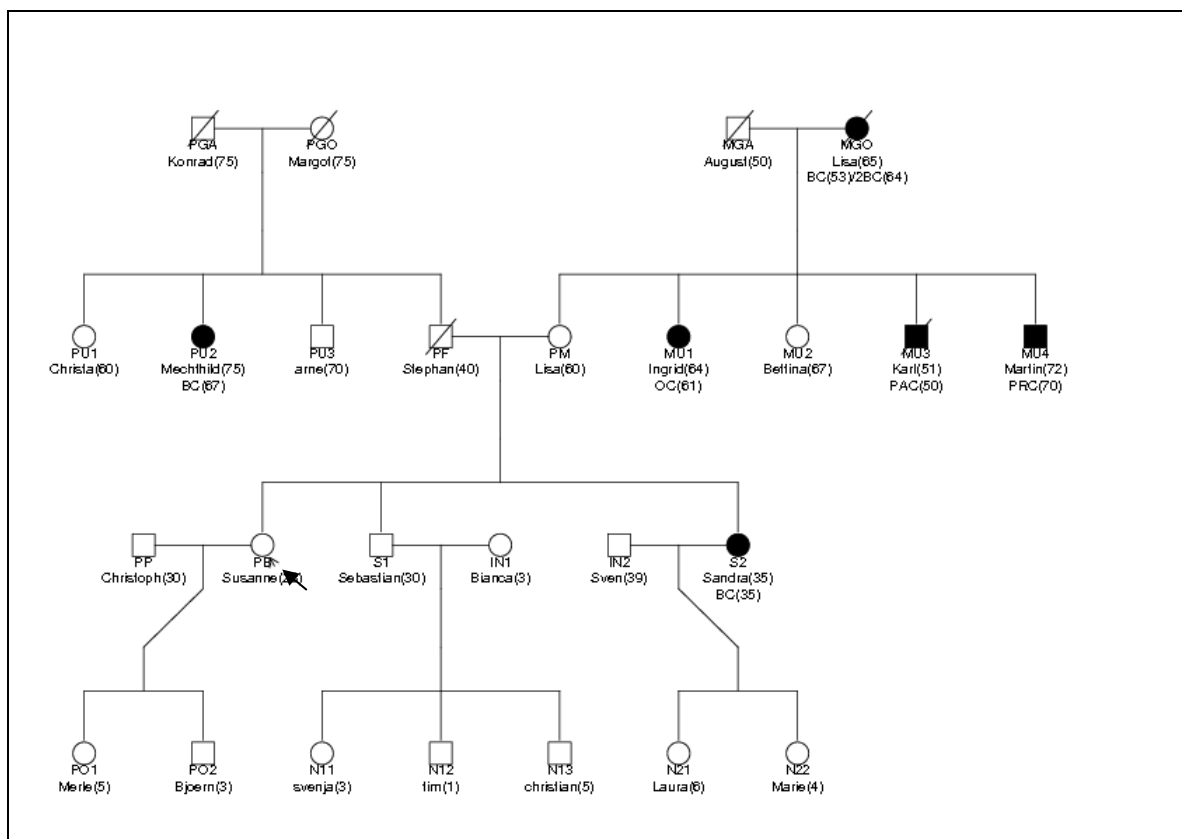
Das BRCAPRO- Programm berechnet separat für *BRCA1* und *BRCA2* die Wahrscheinlichkeit, Träger einer Mutation zu sein. Für das Stammbaumbispiel aus Abbildung 3 ermittelt BRCAPRO ein Risiko von 14,0% für eine Mutation im *BRCA1*- Gen und ein Risiko von 10,7% für eine Mutation im *BRCA2*- Gen. Für das Vorliegen einer ursächlichen Mutation in einem der beiden Gene wird somit ein Risiko von 24,7% errechnet (s. Abb.6), und der Ratsuchenden wird die Durchführung einer molekulargenetischen Untersuchung empfohlen. Das Erkrankungsrisiko wird von BRCAPRO für Brust- und Eierstockkrebs, aber auch für Darmkrebs, Gebärmutterkrebs und Pankreaskrebs bestimmt. Dabei wird sowohl das Fünf- Jahres- Erkrankungsrisiko als auch das lebenslange Erkrankungsrisiko berechnet. Für das Beispiel bestimmt BRCAPRO ein Fünf- Jahres- Erkrankungsrisiko für Brustkrebs von 0,8%. Das lebenslange Erkrankungsrisiko beläuft sich auf 22,9%. Für Eierstockkrebs wird ein fünf- Jahres Erkrankungsrisiko von 0,1% angegeben, das lebenslange Erkrankungsrisiko beläuft sich laut BRCAPRO auf 11,6% für die Ratsuchende.

2.3.3. BOADICEA (*Breast and Ovarian Analysis of Disease Incidence and Cancer Estimation Algorithm*)

http://www.srl.cam.ac.uk/genepi/boadicea/boadicea_intro.html

Das BOADICEA- Programm ist das neueste unter den vorgestellten Programmen. Es basiert auf molekulargenetischen Untersuchungen von 2785 Familien. Die Berechnungen berücksichtigen ein gemischtes Modell, das von einem autosomal dominanten Erbgang für 2 Gene (*BRCA1* und *BRCA2*) ausgeht, und den Einfluss vieler verschiedener anderer Gene in Form einer polygenen Komponente berücksichtigt. Gleichzeitig berücksichtigt das Programm die in der Bevölkerung zunehmenden Brustkrebsinzidenzen. Hierfür wird für Personen aus späteren Geburtskohorten ein höheres Risiko angenommen, einen *BRCA*- relevanten Tumor zu entwickeln als für Personen aus früheren Geburtskohorten. Beispielsweise ist das Risiko für Frauen mit einer *BRCA1*- Mutation, die in dem Zeitraum 1920- 1929 geboren wurden, mit 50% angesetzt, einen Brustkrebs zu entwickeln. Für *BRCA1*- Trägerinnen, die nach 1950 geboren wurden, wird von BOADICEA ein Risiko von 58% definiert, einen Tumor zu entwickeln (Antoniou *et al.* 2008).

Abb.7: Stammbaumbispiel aus Abbildung 3 nach Dateneingabe in das BOADICEA- Programm. Die Ratsuchende ist mit einem Pfeil gekennzeichnet.



Legende: BC= breast cancer (Brustkrebs), OC= ovarian cancer (Eierstockkrebs), PAC= pancreatic cancer (Pankreaskarzinom), PRC= cancer of the prostate gland (Prostatakarzinom).

Auch in das BOADICEA- Programm wurden die Daten des Beispiels (s. Abb.3) übertragen. In Abbildung 7 sieht man den von BOADICEA generierten Stammbaum. Hier werden Familienmitglieder bis zum zweiten Verwandtschaftsgrad berücksichtigt und auch Partner von Verwandten und Halbgeschwister werden mit Alter und Krebsanamnese in die Berechnungen eingeschlossen. Das BOADICEA- Programm berücksichtigt zusätzlich zu Brust- und Eierstockkrebs männlichen Brustkrebs, Prostatakrebs und das Pankreaskarzinom als *BRCA*- relevante Tumore.

Aufgrund der Abhängigkeit des Brustkrebsrisikos von der jeweiligen Geburtskohorte ist es hier möglich, das Jahr des Todes bzw. einen Zeitraum von zehn Jahren als Zeitspanne für den Tod von Familienmitgliedern anzugeben.

Abb.8: Mutations- und Erkrankungswahrscheinlichkeiten der Ratsuchenden aus Abbildung 3 berechnet durch das BOADICEA- Programm. Das Programm gibt Mutationswahrscheinlichkeiten für keine Mutation, *BRCA1* und *BRCA2* separat und Erkrankungswahrscheinlichkeiten für Brust- und Eierstockkrebs an.

The BOADICEA model predicts the following *BRCA1* and *BRCA2* gene mutation carrier probabilities and breast/ovarian cancer risks for this individual:

Genetic status	Mutation carrier probabilities	Age	Breast cancer risks	Ovarian cancer risks
No mutation	0.6873	29	0.0015	0.0000
<i>BRCA1</i>	0.0672	30	0.0035	0.0001
<i>BRCA2</i>	0.2455	31	0.0059	0.0001
		32	0.0087	0.0002
		33	0.0121	0.0002
		38	0.0355	0.0011
		43	0.0700	0.0037
		48	0.1142	0.0080
		53	0.1629	0.0164
		58	0.2104	0.0335
		63	0.2528	0.0471
		68	0.2912	0.0554
		73	0.3261	0.0619
		78	0.3563	0.0680
		80	0.3668	0.0703

In Abbildung 8 ist der Ergebnisbogen des BOADICEA- Programms dargestellt. Man sieht, dass Mutationswahrscheinlichkeiten für beide Gene separat berechnet werden. BOADICEA errechnet für die Ratsuchende aus dem Beispiel ein Risiko von 6,72%, Trägerin einer Mutation in *BRCA1* zu sein und ein Risiko von 24,55% für eine Mutation im *BRCA2* - Gen. Dass die Ratsuchende keine Mutationsträgerin ist, wird mit einer Wahrscheinlichkeit von 68,73% beziffert. Das Erkrankungsrisiko für Brust- und Eierstockkrebs wird für die ersten fünf Jahre einzeln und anschließend in fünf- Jahres Abständen bis zum 80. Lebensjahr berechnet. So gibt BOADICEA ein Risiko von 0,15% an, dass die Ratsuchende im folgenden Jahr an Brustkrebs erkrankt, nach fünf Jahren beträgt ihr Erkrankungsrisiko 1,21% und bis

zum 80. Lebensjahr wird für die Ratsuchende ein Risiko von 36,68% angegeben, einen Brustkrebs zu entwickeln. Für die Entwicklung von Eierstockkrebs beziffert BOADICEA ein Risiko von 0%, nach fünf Jahren beträgt das Erkrankungsrisiko 0,02% und bis zum 80. Lebensjahr der Ratsuchenden steigt es auf 7,03%.

2.3.4. Besonderheiten bei der Dateneingabe

Die Dateneingabe erforderte im Allgemeinen persönliche und anamnestische Angaben zum Probanden sowie zu dessen Angehörigen. Manchmal waren die Angaben in den Krankenakten nicht eindeutig oder lückenhaft. In einigen Fällen konnten Angaben zu der Art des Karzinoms von Betroffenen nicht oder nicht eindeutig geklärt werden. So wurde zum Beispiel ein Tumor als Unterleibskrebs bezeichnet, ob es sich dabei um Eierstockkrebs, Gebärmutterhalskrebs, o.a. handelte, konnte dabei aber oft nicht abschließend geklärt werden. Wir verständigten uns darauf, in diesen Fällen das Risikoprofil zweimal auszurechnen. So wurde das Risiko zum einen für Gebärmutterhalskrebs berechnet, zum anderen für ein Ovarialkarzinom. Daraufhin ergaben sich zwei Werte unterschiedlicher Größe. Da das Ovarialkarzinom zum Tumorspektrum von *BRCA1* oder *BRCA2* gehört, fiel in diesem Fall das Risiko höher aus als unter der Annahme eines Gebärmutterhalskrebses. Als endgültige Entscheidung für einen Risikowert wählten wir abschließend immer den höheren. Fehlten Angaben zum Alter von Angehörigen, wurden diese geschätzt. Dies geschah unter Berücksichtigung einer Generationszeit von 25 Jahren.

2.4. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte unter Beteiligung von Herrn Mag. A. Rosenberger, aus der Abteilung Gentische Epidemiologie der Georg-August-Universität Göttingen.

2.4.1. Sensitivität/ Spezifität/ Youden Index

Um die Sensitivität, die Spezifität und den Youden Index zu bestimmen, benutzen wir die gängigen Formeln.

Sensitivität = Anzahl richtig positive / (Anzahl richtig positive + Anzahl falsch negative)

Spezifität = Anzahl richtig negative / (Anzahl richtig negative + Anzahl falsch positive)

Youden Index = Sensitivität + Spezifität - 1

2.4.2. RGui, Konfidenzintervalle

Mittels eines exakt binomialen Tests des Programmes R ermittelten wir die Konfidenzintervalle nach Clopper und Pearson (1934) für die Sensitivität der verschiedenen Programme für unterschiedliche Subgruppen.

2.4.3. SPSS, ROC- Kurve und *Area under the ROC*

Für die Erstellung der ROC- Kurve benutzten wir das Programm Pasw statistic 18 aus dem Statistikprogramm SPSS. Für jeden möglichen Grenzwert werden hierbei die Sensitivität und die Spezifität des jeweiligen Risikokalkulationsprogramms berechnet. Durch graphische Auftragung der Sensitivität auf der Ordinate gegen 1 - Spezifität auf der Abszisse wird anschließend die ROC- Kurve erstellt. Das Programm berechnet gleichzeitig die Fläche unter der Kurve *AUC (Area under the curve)* sowie das 95%- Konfidenzintervall. Die Berechnungen wurden für drei Subgruppen durchgeführt: für das Gesamtkollektiv sowie für die Hoch- und die Niedrigrisikogruppe.

2.4.4. STATISTICA *Scatterplots*

Zur Erstellung der *Scatterplots* benutzten wir das Programm Statistica 8. Dabei wurden die Ergebnisse der Risikokalkulationsprogramme, also die Wahrscheinlichkeit, Träger einer Mutation in *BRCA1* oder *BRCA2* zu sein, gegeneinander aufgetragen. Zur besseren Übersicht wählten wir eine logarithmische Darstellung der Werte (\log_{10}). Das Programm berechnet für jeden *Scatterplot* einen Korrelationskoeffizienten.

3. Ergebnisse

3.1. Das Patientenkollektiv

In unserer Studie wurden retrospektiv die Daten von 257 Patienten bzw. von 183 Familien untersucht. Für jeden Patienten errechneten wir unter Anwendung dreier verschiedener Programme zur Risikokalkulation, namentlich BOADICEA, BRCPARO und MYRIAD, die Wahrscheinlichkeit, Träger einer Mutation in einem der Gene *BRCA1* und *BRCA2* zu sein. Die Risikozahlen wurden anschließend mit den Ergebnissen der molekulargenetischen Untersuchung der jeweiligen Person korreliert.

3.2. Mutationen innerhalb unseres Patientenkollektivs

Von den 183 untersuchten Familien wiesen 48 Familien eine Mutation auf. Davon war in 35 Fällen das *BRCA1*- Gen, in 13 Fällen das *BRCA2*- Gen betroffen. Somit können wir eine Mutationsdetektionsrate von 26,23% verzeichnen.

Tab.7: Mutationen in unserem Patientenkollektiv mit Brust- und Eierstockkrebsanamnese und Risikozahlen. Beispielhaft wird die erste Zeile der Tabelle erläutert. Der Ratsuchenden wurde anonymisiert die Patientenummer 32313 zugeteilt. In der molekulargenetischen Untersuchung wurde die Mutation Ex20c.5382insC in *BRCA1* nachgewiesen. In der Familie war die Ratsuchende mit 40 Jahren an einseitigem Brustkrebs und Eierstockkrebs erkrankt. Folgende Mutationsrisiken wurden berechnet: BRCPARO: 39,8%, BOADICEA: 64,4%, MYRIAD: 39,1%.

Patientenr.	Mutation in <i>BRCA1</i>	Brustkrebs in der Familie mit Alter bei Diagnosestellung	Ovarialkarzinome in der Familie mit Alter bei der Diagnosestellung	Risiko BRCPARO	Risiko BOADICEA	Risiko MYRIAD
32313	Ex20c.5382insC	Pat. 40	Pat. 40	39,80	64,46	39,10
32310	Duplikation Ex 13	Pat. bds. 42 u 45, Schwester bds. 29, Großtante	Pat. 49, Mutter 69	100,00	99,97	79,00
32301	Ex11c.3604delA	Pat. 50, Mutter 38, Großmutter 39, Großtante 50		38,60	29,44	11,40
30095	Ex11c.4086C>T	Pat. bds. 39 u 64, Großmutter bds. 60 u 65		97,9	51,1	2,8

Patien- tennr.	Mutation in <i>BRCA1</i>	Brustkrebs in der Familie mit Alter bei Diagnosestellung	Ovarialkarzinome in der Familie mit Alter bei der Diagnosestellung	Risiko BRCAPRO	Risiko BOADICEA	Risiko MYRIAD
30084	Ex20c.5382_5383 insC	Pat. 37, Schwester 50	Pat. 38, 2 Schwestern Unterleibskrebs	99,9	99,92	70,8
30082	Ex11c.2594delC	Pat. 21	Großmutter 75, Großtante 65	25,4	9,91	16,9
30081	Deletion Ex 2	Pat. 27, Mutter bds. 31 u 33, Großmutter 70	Mutter 42	97,9	97,56	39,2
30073	Ex11c.2494delC	Pat. 57, Schwester bds. 40 u 45	Pat. 57, Mutter 57, Schwester 50	99,6	93,61	60
30064	Ex16c.4808C>G	Pat. 48	Mutter 48	13,1	30,06	16,9
30035	Ex 11 c.3600del GAAGATACTAG	Pat. 34, Großmutter 42		8,20	12,88	15,80
30024	Ex20c.5382_5383 ins C	Pat. 41, Mutter 45, Tante bds. 50 u 61, Großmutter 43, Großtante 50, Großcousine 50	Großtante 25	81,70	47,87	30,10
26990	Ex11c.862delC	Pat. 36, Tante 39	2 Tanten 71, 42	87,00	84,47	39,20
26988	Ex11c.3746- 3747ins A	Pat. bds. 44 u 51, Tante 39	Mutter 65, Tante 35	99,00	96,93	39,20
26987	Ex20c.5382_5383i nsC	Pat. 38	Mutter 56, Großmutter 85	58,60	21,49	27,30
26986	Ex2c.185_186delA G	Pat. 46	Pat. 44, Großmutter 36	91,00	89,44	66,00
26974	Ex2c.185_186del. AG	Schwester 45	Pat. 42	66,50	64,79	23,10
26971	Ex2c.185- 186delAG	Pat. bds. 45 u 51, Mutter 47		97,10	90,90	12,20
26946	Ex20c.5382insC	Pat. bds. 39, Tochter 32, Mutter, Tante, Cousine		94,80	90,24	15,80
26941	Ex11c.del3819- 3823GTAAA	Schwester 40	Pat. 63, 2 Schwestern 72, 32	94,30	89,26	46,50
26935	l15c.4794+1G>A	Mutter 55	Pat. 75, Mutter 54	53,50	34,61	21,10
26929	Ex11c.2115delC	Pat. 28	Großmutter 48	26,30	19,67	16,90
26917	l16 c.5105+6T>G	Pat. 49, Großmutter 54, Großtante 54	Mutter 54	26,10	36,88	16,90

Patien tennr.	Mutation in <i>BRCA1</i>	Brustkrebs in der Familie mit Alter bei Diagnosestellung	Ovarialkarzinome in der Familie mit Alter bei der Diagnosestellung	Risiko BRCAPRO	Risiko BOADICEA	Risiko MYRIAD
26900	Deletion Ex 1 bis Ex 4	Pat. bds. 41 u 63, Tochter 41, Tante 70, Cousine bds. 51 u 56	Tante Unterleibskrebs 54	71,00	84,05	39,20
22130	Ex20c.5382insC		Pat. 39, Tante 58, Tante Unterleibskrebs 58	68,50	67,63	33,20
22128	Ex5c.300 T>G	Pat. bds. 51 u 64, Tochter 44, 3 Schwestern 60, 57, 50, Nichte bds. 35 u 39		99,00	92,63	11,40
11198	Ex11c.3819delGTA AA	Pat bds. 33 u 43, Mutter 45, Großtante bds. 67	Mutter 46	99,20	98,33	39,20
11187	Ex2 c.185delAG	Pat. 38, Schwester bds. 36 u 41,		69,50	45,84	15,80
11176	Ex5 c.300 T>G	Pat. 40, Tante 40		2,30	8,20	15,80
11168	Ex 17c.5149delCTAA	Pat. 53, 3 Schwestern 45, 50, 50, Mutter bds. 64, Tante 60, Großmutter bds. 68	Mutter 66	85,00	80,36	15,90
11162	Ex20c.5382insC	Pat. 55, Tochter 38,	2 Töchter 40, 38	67,10	84,98	15,90
11147	Ex16c.4808C>G	Pat. bds. 37 u 38, Schwester 40, Mutter 58,	Pat. 42, Schwester 41	100,00	99,74	79,00
11145	Ex11c.1406insA	Pat. bds. 50 u 70, Tochter 65, Mutter 49, 2 Nichten	Tochter 59, Schwester 63	99,60	87,03	15,90
11128	Ex11c.3519G>T	Pat. 48, Mutter 45, Tante 54		63,80	41,98	15,80
11122	Ex19c.5298A>T	Pat. 51, 2 Schwestern 38, 27		49,20	28,29	11,40
11112	Ex20c.5382insC	Pat. bds. 39 u 61, Tochter 41		25,70	25,41	15,80
Patien tennr.	Mutation in <i>BRCA2</i>	Brustkrebs in der Familie mit Alter bei Diagnosestellung	Ovarialkarzinome in der Familie mit Alter bei Diagnosestellung	Risiko BRCAPRO	Risiko BOADICEA	Risiko MYRIAD
32319	Ex11c.4512insT	Pat. 67, Mutter 50		0,60	1,76	2,90

Patien- tennr.	Mutation in <i>BRCA2</i>	Brustkrebs in der Familie mit Alter bei Diagnosestellung	Ovarialkarzinome in der Familie mit Alter bei Diagnosestellung	Risiko BRCAPRO	Risiko BOADICEA	Risiko MYRIAD
30068	Ex8c.886delGT	Pat. 56, Mutter 38	Pat. 42	82,2	79	26,1
30054	Ex11c.4512insT	Pat. 35, Cousine	Cousine	3,8	4,14	6,8
30005	Ex14c.7253- 7254delAA	Pat. 45, Schwester 32, Mutter 51		57,10	31,49	15,80
30003	Ex11c.5392- 5393delAG	Pat. bds. 44, Mutter 40	Pat. 66, Großmutter Unterleibskrebs 65	99,90	98,48	79,00
26970	Ex11c.del16174T	Pat. 32, Großmutter bds. 30		85,10	79,11	53,90
26956	Ex11c.5467insT	Pat. 49, Mutter bds. 74	Pat. 60	16,10	77,06	39,10
26918	Deletion Ex 22 bis 27	Pat. 34		1,20	3,00	6,80
20342	Ex11c.4781delA	Großmutter bds. 47, 3 Großtanten 25, 50, 65		5,30	4,96	4,50
11209	Duplikation Ex 15 u 16	Mutter 45, Tante 73, Cousine 50, Tante 41, Tochter der Cousine 22		34,20	25,77	8,70
11205	Ex25c.9631delC	Pat. bds. 33 u 46, Schwester 27		87,60	73,45	15,80
11161	EX11c.4457insA		Pat. 81, Tochter 47	6,20	0,35	21,10
11142	Ex11c.5803delATT A	Pat. 54, 2 Schwestern 59, 48	Pat. 46, Tante 60	90,10	85,73	60,00

Tabelle 7 zeigt die Mutationen, die in unserem Kollektiv gefunden wurden, zusammen mit der Brust- und Eierstockkrebsanamnese sowie die durch die drei Programme berechneten Risiken für die Ratsuchende in der Familie.

Tab.8: Auffälligkeiten innerhalb unseres Patientenkollektivs. Gezeigt werden die Mutationen, welche am häufigsten innerhalb unseres Kollektivs gefunden wurden, Auffälligkeiten in der Familienanamnese von Familien mit nachgewiesener Mutation sowie Auffälligkeiten in der Familienanamnese bei Familien mit nachgewiesener Mutation in der *Ovarian Cancer Cluster Region (OCCR)*.

Besonderheiten innerhalb unseres Patientenkollektivs		
Häufigste Veränderungen	Mutation	Häufigkeit
	<i>BRCA1</i> Ex20 c.5382	8x
	<i>BRCA1</i> Ex2 c.185delAG	4x
	<i>BRCA1</i> Ex5 c.300T>G, <i>BRCA1</i> Ex11 c.3819delGTAAA, <i>BRCA1</i> Ex16 c.4808C>G, <i>BRCA2</i> Ex11 c.4512insT	2x
Auffälligkeiten in der Familienanamnese		
30/ 48 Familien	≥1 Ovarialkarzinom in der Familie	
22/ 48 Familien	≥ beidseitiger Brustkrebs in der Familie	
Mutationen innerhalb der OCCR		
Insgesamt 7 Familien	5 Familien ≥1 Ovarialkarzinom in der Familie	
	3 Familien 2 Ovarialkarzinome in der Familie	
	Jedoch auch vermehrt Brustkrebsfälle in der Familie	

In Tabelle 8 sind die Besonderheiten innerhalb unseres Patientenkollektivs aufgelistet. Die Veränderung, die wir am häufigsten in unserem Patientenkollektiv verzeichnen konnten, ist die Mutation c.5382insC in Exon 20 des *BRCA1*- Gens. Sie wurde bei insgesamt acht Familien nachgewiesen. Des Weiteren wurde die Mutation c.185delAG in Exon 2 des *BRCA1*- Gens insgesamt viermal in unserem Kollektiv nachgewiesen. Die Mutationen c.300T>G in Exon 5, c.3819delGTAAA in Exon 11, c.4808C>G in Exon 16 des *BRCA1*- Gens sowie die Mutation c.4512insT des Exon 11 des *BRCA2*- Gens wurden jeweils zweimal in unserem Kollektiv nachgewiesen.

In Tabelle 1 fällt auf, dass in 30 der 48 Familien, bei denen eine Mutation detektiert wurde, ein oder mehr Fälle von Eierstockkrebs vorgekommen sind. Ebenfalls sind sehr viele Fälle von Brustkrebs in diesen Familien verzeichnet. In 22 Fällen trat mindestens ein beidseitiger Brustkrebs innerhalb der Familie auf. In 46 der 48 Familien waren mindestens zwei Familienmitglieder von Brust- oder Eierstockkrebs betroffen.

Neuhausen et al. beschrieben 1998 die *Ovarian Cancer Cluster Region (OCCR)* des *BRCA2*- Gens, welche in Exon 11 zwischen den Nukleotiden 3035- 6629 lokalisiert ist.

Thompson et al. beschrieben 2001 eine erhöhte Inzidenz von Eierstockkrebs bei gleichzeitig verringerter Brustkrebsinzidenz im Falle von Mutationen innerhalb dieser Region.

In unserem Kollektiv wurde in insgesamt sieben Familien eine Mutation in der OCCR festgestellt (s. Tab.9). Fünf davon wiesen mindestens ein von Eierstockkrebs betroffenes Familienmitglied auf, in drei Fällen waren zwei Familienmitglieder betroffen. Allerdings traten in allen Familien auch vermehrt Brustkrebsfälle auf.

Tab.9: Familien mit Mutationen innerhalb der *Ovarian Cancer Cluster Region, OCCR (BRCA2 Ex11c.3035-6629)*, welche in unserem Patientenkollektiv nachgewiesen wurden. Dazu sind alle Brust- und Eierstockkrebserkrankungen innerhalb der Familie mit Alter bei Diagnosestellung aufgelistet.

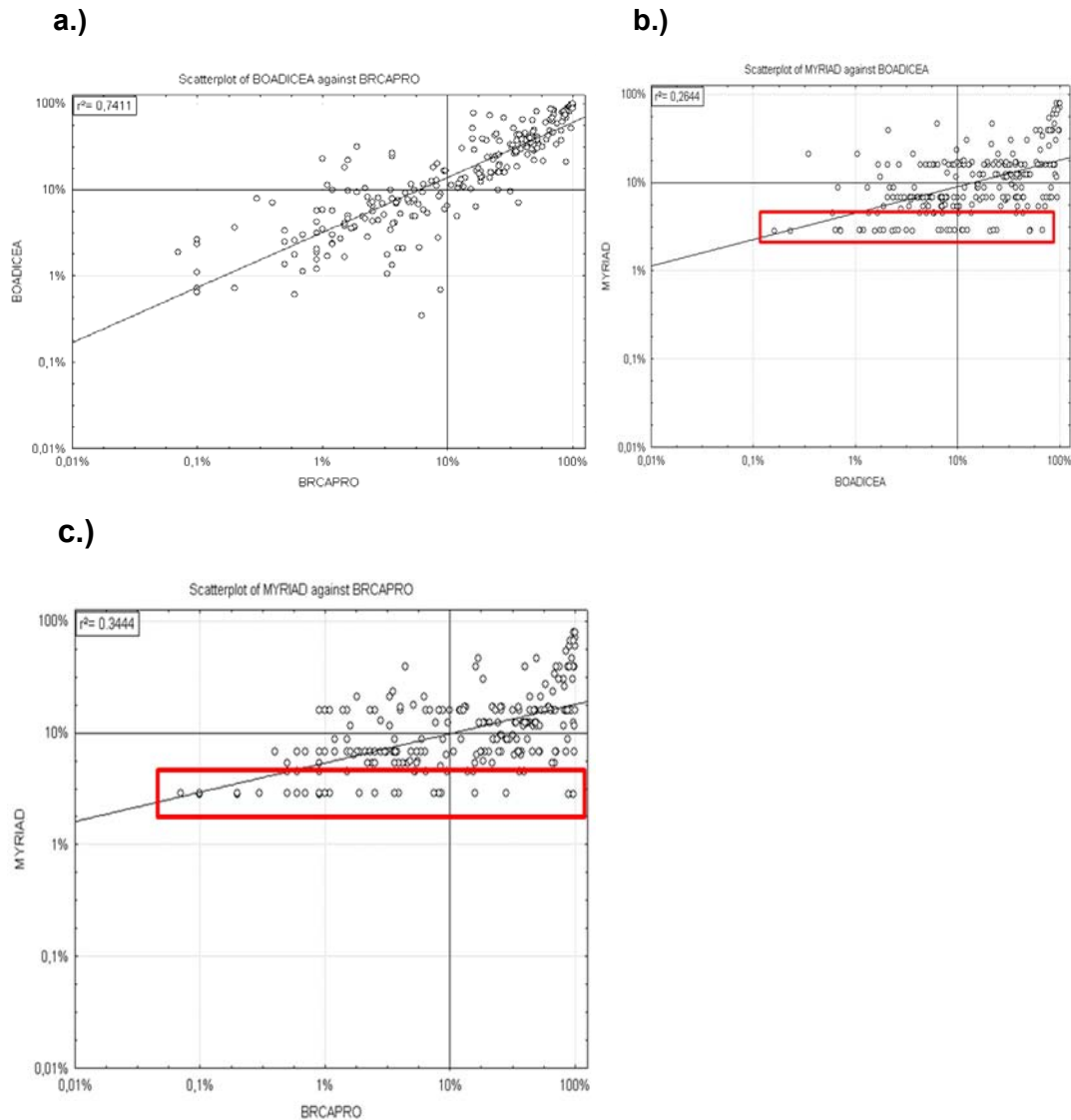
Mutation	Eierstockkrebs in der Familie mit Alter bei Diagnosestellung	Brustkrebs in der Familie mit Alter bei Diagnosestellung
Ex11c.5803delATTA	Pat. 46, Tante 60	Pat. 54, 2 Schwestern 59, 48
Ex11c.4457insA	Pat. 81, Tochter 47	
Ex11c.4781delA		Großmutter bds. 47, 3 Großtanten 25, 50, 65
Ex11c.5467insT	Pat. 60	Pat. 49, Mutter bds 74
Ex11c.5392-5393delAG	Pat. 66, Großmutter Unterleibskrebs 65	Pat. bds 44, Mutter 40
Ex11c.4512insT,Stop1437	Cousine	Pat. 35, Cousine
Ex11c.4512insT,Stop1437		Pat. 67, Mutter 50

3.3. Statistische Auswertung

3.3.1. Korrelationskoeffizient

Zunächst haben wir die Risikozahlen miteinander verglichen, die mit den einzelnen Programmen erhalten wurden. Hierzu erstellten wir *Scatterplots* und berechneten den Korrelationskoeffizienten.

Abb.9: Scatterplots: Gegenüberstellung der Risikoberechnungen der Programme BOADICEA gegen BRCAPRO (a), MYRIAD gegen BOADICEA (b), MYRIAD gegen BRCAPRO (c) sowie Ermittlung des Grades der Übereinstimmung der Risikokalkulationen mithilfe des Korrelationskoeffizienten. Umrandet sind die auffälligen Rasterstrukturen, welche durch die Funktionsweise des MYRIAD- Programms zustande kommen.



In Abbildung 9 sind die Ergebnisse der Risikoberechnungen der drei Programme gegenübergestellt. BRCAPRO und BOADICEA (s. Abb.9a) zeigen eine starke Korrelation. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,74, d.h. dass die Programme sehr ähnliche Aussagen über die Risikokonstellation der Ratsuchenden treffen.

Die Berechnungen von MYRIAD und BOADICEA zeigen eine schwache Korrelation (s. Abb. 9b). Der Korrelationskoeffizient beträgt hier 0,26. Die Programme liefern geringer übereinstimmende Ergebnisse. Auf der Abbildung markiert sieht man, dass die einzelnen Punkte des MYRIAD- Programms gruppiert angeordnet sind. Dies ist ein Ausdruck dafür, dass das MYRIAD- Programm im Gegensatz zu den anderen Programmen die Personen

anhand ihrer vereinfachten Familienkonstellation in verschiedene Risikogruppen einteilt. Daraus ergibt sich, dass für mehrere Personen öfter derselbe Risikowert vorhergesagt wird (s. Tab.5).

Betrachtet man den *Scatterplot*, in dem die Risikoberechnungen des MYRIAD- Programms gegen die Berechnungen von BRCAPRO abgebildet sind (Abb.9c), so präsentiert sich ein ähnliches Bild wie in der zuvor beschriebenen Abbildung. Wieder sind die gruppierten Werte des MYRIAD- Programms erkennbar. Hier hat der Korrelationskoeffizient einen Wert von 0,34. Die Aussagen von MYRIAD und BRCAPRO stimmen zwar besser überein als die von MYRIAD und BOADICEA, trotzdem beschreibt der Korrelationskoeffizient nur eine schwache Korrelation mit geringer Signifikanz.

3.3.2. Sensitivität und Spezifität

3.3.2.1. Sensitivität bei einem Schwellenwert von 10%

Nach den Leitlinien des Deutschen Konsortiums für Familiären Brust- und Eierstockkrebs wird bei Patienten mit einem Risiko $\geq 10\%$ für Brust- und/ oder Eierstockkrebs eine Indikation zur molekulargenetischen Untersuchung gestellt. Aus diesem Grund bestimmten wir zunächst die Sensitivität und die Spezifität der drei Programme bei einem Schwellenwert von 10% (s.Tab.10).

Dabei beschreibt die Sensitivität die Wahrscheinlichkeit, mit der ein Programm einen Mutationsträger entdecken kann. Die Spezifität wiederum ist ein Wert für die Wahrscheinlichkeit, mit welcher ein Proband, der nicht Träger einer Mutation ist, durch den Test auch als unauffällig zu erkennen ist.

Tab.10: Sensitivität und Spezifität der drei Programme, welche bei dem international anerkannten Schwellenwert von 10% erreicht werden. Dabei wurde ein Konfidenzintervall von 95% gewählt.

Gesamt	Schwellenwert	Sensitivität (CI= 95%)	Spezifität (CI=95%)
BRCAPRO	10%	86% (76–92%)	57% (49-64%)
BOADICEA		87% (78–93%)	51% (43-58%)
MYRIAD		75% (64–84%)	64% (57-71%)

Ermittelt man die Sensitivität bei dem von den deutschen Leitlinien vorgegebenen und international anerkannten Schwellenwert von 10% (s. Tab.3), so schneidet in der Gesamtkohorte BOADICEA mit 87% (CI = 78-93%) am besten ab, gefolgt von BRCAPRO mit 86% (CI = 76-92%). MYRIAD liegt mit 75% (CI = 64-84%) unterhalb der Konfidenzintervalle beider Programme und schneidet damit klar schlechter ab.

Den besten Wert für die Spezifität bei 10% erlangt das MYRIAD- Programm mit einem Wert von 64% (CI= 57-71%). BRCAPRO erreicht eine Spezifität von 57% (CI= 49-64%). BOADICEA liegt mit einer Spezifität von 51% unterhalb des Konfidenzintervalls von MYRIAD und ist deshalb klar schlechter einzustufen.

Insgesamt jedoch ist kein Programm den anderen sowohl in der Sensitivität als auch in der Spezifität überlegen.

3.3.2.2. Sensitivität und Spezifität bei verschiedenen Schwellenwerten

Aufgrund der Tatsache, dass die Programme bei der Risikokalkulation bei einem Schwellenwert von 10% einige falsch negative Ergebnisse lieferten, versuchten wir durch Änderungen der Schwellenwerte die Leistungen der Programme zu verbessern. Daher prüften wir Sensitivität und Spezifität anhand verschiedener Schwellenwerte, um denjenigen Schwellenwert bestimmen zu können, bei dem die Programme die beste Leistung erzielen. Dabei sollten falsch negative Ergebnisse möglichst unwahrscheinlich sein und gleichzeitig möglichst wenige Patienten falsch positiv getestet werden, auch um überflüssige genetische Untersuchungen zu vermeiden.

In Tabelle 11 wurden Sensitivität und Spezifität der Programme in Hinblick auf unterschiedlich definierte Schwellenwerte bestimmt.

Als sehr gutes Ergebnis definierten wir eine Sensitivität von 90%. Es wird deutlich, dass für das Programm BOADICEA ein Schwellenwert von 4% angesetzt werden muss, damit die Sensitivität > 90% beträgt. Für das Programm BRCAPRO beträgt der Schwellenwert 5% um eine >90%ige Sensitivität zu erreichen. Der Schwellenwert, bis zu dem MYRIAD eine Sensitivität von 90% hält, liegt bei 6%.

Anschließend hält BOADICEA eine Sensitivität von 89% bis zu einem Schwellenwert von 8%. Erst danach sinkt die Sensitivität auf 87% bei einem Schwellenwert von 10%. Die Spezifität erreicht 44,8% bei einem Schwellenwert von 8% und steigt auf 50,6%, betrachtet man den Schwellenwert von 10%.

MYRIAD erreicht bei einem Schwellenwert von 8% eine Sensitivität von 86,7%. Anschließend sinkt der Wert im Vergleich zu den beiden anderen Programmen stärker und erreicht nur noch 74,7% bei einem Schwellenwert von 10%. Die Spezifität von MYRIAD erreicht die höchsten Werte unter den drei Programmen. Sie beträgt 64% bei einem Schwellenwert von 10% und erreicht 95% bei einem Schwellenwert von 20%.

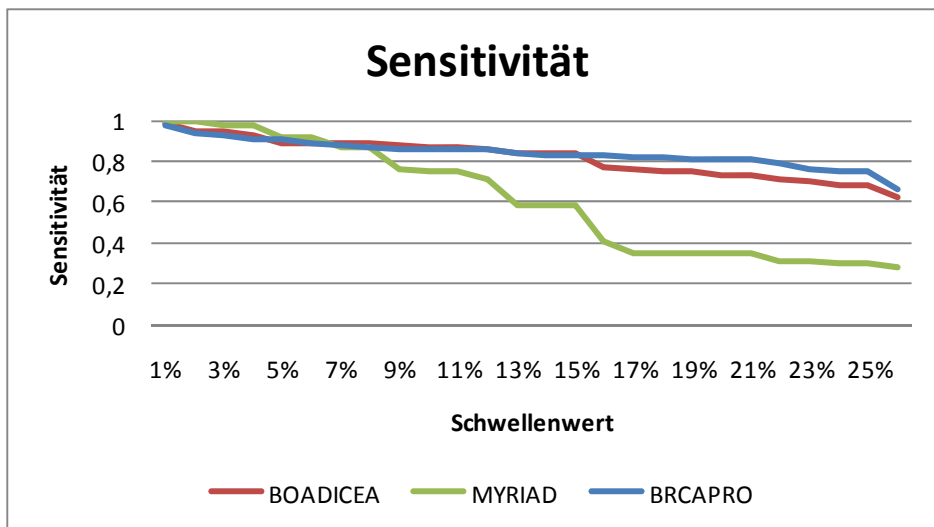
Auch BRCAPRO erreicht eine Sensitivität von 88% bei einem Schwellenwert von 8% und 86% bei einem Schwellenwert von 10%. Die Werte für die Spezifität betragen 38% bei einem Schwellenwert von 8% und 57% bei einem Schwellenwert von 10%.

Tab.11: Sensitivität und Spezifität der drei Programme bei unterschiedlichen Schwellenwerten. Grau unterlegt sind die Werte für Sensitivität und Spezifität bei einem Schwellenwert von 10%, wie auch der Schwellenwert, bis zu welchem das jeweilige Programm einen Wert für die Sensitivität von $\geq 90\%$ hält.

Schwellenwert	4%	5%	6%	7%	8%	9%	10%	15%	20%
BOADICEA									
Sensitivität	93% (85-97%)	89% (80-95%)	89% (80-95%)	89% (80-95%)	89% (80-95%)	88% (79-94%)	87% (77-93%)	84% (75-91%)	74% (63-83%)
Spezifität	23% (17-30%)	28% (22-36%)	34% (27-42%)	38% (31-46%)	45% (37-53%)	46% (38-54%)	51% (43-58%)	61% (53-68%)	67% (60-74%)
MYRIAD									
Sensitivität	98% (92-100%)	92% (83-97%)	92% (83-97%)	87% (78-93%)	87% (78-93%)	76% (65-85%)	75% (64-84%)	59% (48-70%)	35% (25-46%)
Spezifität	16% (11-22%)	20% (14-27%)	31% (24-39%)	59% (51-66%)	59% (51-66%)	63% (56-70%)	64% (57-72%)	76% (69-82%)	95% (90-98%)
BRCAPRO									
Sensitivität	90% (82-96%)	90% (82-96%)	89% (80-95%)	88% (79-94%)	87% (78-93%)	86% (76-92%)	86% (76-92%)	83% (73-91%)	81% (71-89%)
Spezifität	40% (33-48%)	44% (37-52%)	48% (40-55%)	51% (43-58%)	51% (43-58%)	55% (47-62%)	57% (49-64%)	62% (54-69%)	68% (61-75%)

Bei einem diagnostischen Test wie dem unseren ist es jedoch von größerer Wichtigkeit, möglichst alle potentiellen Mutationsträger zu erkennen als die Gesunden aus dem Kollektiv als mutationsfrei zu identifizieren. Eine hohe Sensitivität ist wichtig, und um dies zu erreichen, ist es akzeptabel, wenn sich darunter die Spezifität des Tests verringert.

Abb.10: Graphische Darstellung des Verlaufs von Werten für die Sensitivität der drei Programme bei steigenden Schwellenwerten bis 25%.



Betrachtet man das Diagramm, in dem die Sensitivität der drei Programme zu verschiedenen Schwellenwerten graphisch dargestellt ist (Abb.10), so sieht man, dass alle drei Programme ähnliche Werte bis zu einem Schwellenwert von 8% erreichen. Bei Schwellenwerten darüber fällt die Sensitivität, insbesondere die des MYRIAD- Programms, rasch ab. Die Kurven für BRCAPRO und BOADICEA fallen weniger steil ab und verlaufen auf sehr ähnliche Weise.

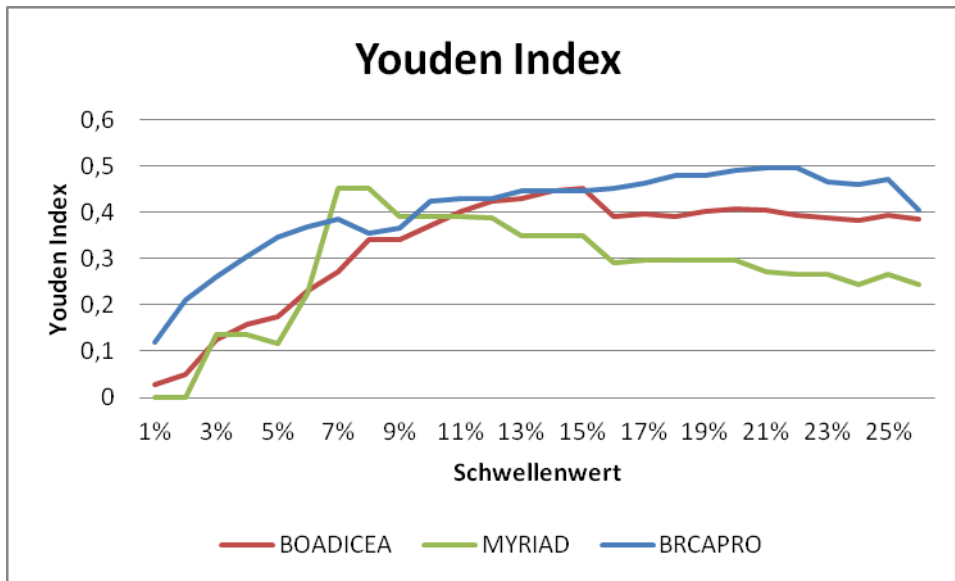
3.3.3. Der Youden Index

Tab.12: Werte für den Youden Index der drei Programme anhand steigender Schwellenwerte bis 25%.

Schwellenwert	5%	6%	7%	8%	9%	10%	15%	17%	20%	21%	25%
BOADICEA	0,17	0,23	0,27	0,34	0,34	0,37	0,45	0,40	0,41	0,41	0,39
BRCAPRO	0,35	0,37	0,39	0,38	0,40	0,42	0,45	0,46	0,49	0,50	0,47
MYRIAD	0,12	0,23	0,45	0,45	0,39	0,39	0,35	0,30	0,30	0,27	0,27

Unter Anwendung des Youden Index (s. Begriffserklärungen) wollten wir einen optimalen Schwellenwert bestimmen (Tab.12). Er beschreibt, wie zuverlässig Mutationsträger und Nicht- Mutationsträger durch einen diagnostischen Test unterschieden werden können. Seine Werte liegen definitionsgemäß zwischen null und eins, wobei ein Wert von eins einen perfekten Test widerspiegelt, da dann Sensitivität und Spezifität Werte von 100% erreichen.

Abb.11: Graphische Darstellung des Verlaufs der Ergebnisse für den Youden Index der drei Programme bei steigenden Schwellenwerten bis 25%.



In Abbildung 11 sind die unterschiedlichen Werte des Youden Index für die verschiedenen Programme graphisch dargestellt. Für das MYRIAD- Programm ergibt sich der höchste Wert bei den Schwellenwerten von 7% bzw. 8% (0,45). Bei höheren Schwellenwerten sinkt die Kurve schneller ab als bei den beiden anderen Programmen. BOADICEA schneidet mit einem Youden Index von 0,34 bei einem Schwellenwert von 8% am schlechtesten ab. BRCAPRO erreicht hier einen Wert von 0,38. Betrachtet man den international anerkannten Schwellenwert von 10%, so erzielt hier BRCAPRO den höchsten Wert mit 0,42. MYRIAD erreicht einen Wert von 0,39 und BOADICEA 0,37. Allerdings unterscheiden sich die Werte aller drei Programme bei einem Schwellenwert von 10% nur in sehr geringem Maße. In der Graphik kann man sehen, dass sich die Kurven in diesem Punkt fast treffen. BOADICEA erreicht den höchsten Wert für den Youden Index bei einem Schwellenwert von 15%, danach fällt die Kurve langsam ab. Der höchste Wert des BRCAPRO- Programms liegt bei einem Schwellenwert von 21%.

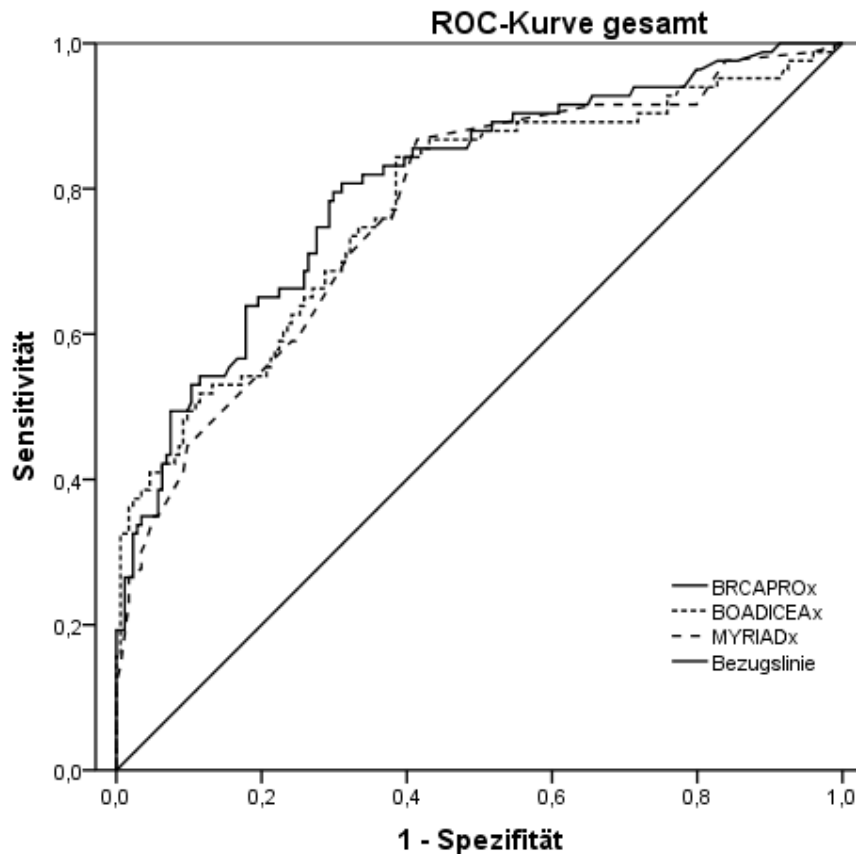
3.3.4. ROC- Kurve und AUC (*Area Under the Curve*)

Im nächsten Schritt haben wir die ROC- Kurve für unser Kollektiv bestimmt. Diese Verfahrensweise wurde in den meisten Publikationen angewandt. Dabei wurde analog zu Antoniou et al. (2008) das Gesamtkollektiv betrachtet. Anders als beim Youden Index ermöglicht diese Verfahrensweise die Programme unabhängig von spezifischen Schwellenwerten miteinander zu vergleichen.

Bei der ROC- Kurve handelt es sich um ein statistisches Mittel, welches die Werte für Sensitivität und Spezifität eines diagnostischen Tests an verschiedenen Schwellenwerten gegeneinander aufträgt. Die Bezugslinie des Diagramms spiegelt ein Testergebnis wieder,

welches eine ebenso hohe Treffer- wie Fehlerrate aufweist. Ein derartiges Ergebnis würde man von einem Test erwarten, welcher Patienten einzig nach dem Zufallsprinzip in Betroffene und Nicht- Betroffene selektiert.

Abb.12 : Graphische Darstellung der ROC- Kurven der drei Programme BRCAPRO, BOADICEA und MYIAD für das Gesamtkollektiv.



Die Fläche unter der Kurve (AUC) ist ein Maß für die Qualität eines Tests. Sie beschreibt die Fläche unter der ROC- Kurve und ihre Werte liegen zwischen 0,5 und eins. Dabei deutet ein Wert von 0,5 auf eine zufällige Selektion des Tests hin, während ein Wert von eins einen perfekten Test beschreibt (Richter et al. 1988).

Tab.13: Ergebnisse der Berechnungen der Flächen unter den ROC- Kurven (AUC) der drei Programme für das Gesamtkollektiv. Hierfür wurde ein Konfidenzintervall von 95% gewählt.

Programm	AUC	Konfidenzintervall 95%
BRCAPRO	0,803	0,745 – 0,862
BOADICEA	0,777	0,713 – 0,841
MYRIAD	0,771	0,708 – 0,833

Betrachtet man die Flächen unter den ROC- Kurven, so erzielen alle Programme Werte, die sich signifikant von 0,5 unterscheiden. BRCAPRO schneidet mit einem Wert von 0,803 am besten ab. Allerdings erzielen auch MYRIAD und BOADICEA ähnlich gute Ergebnisse, nämlich 0,771 für MYRIAD und 0,777 für BOADICEA (s. Tab.13).

3.4. Risikokalkulationen für unterschiedliche Subgruppen

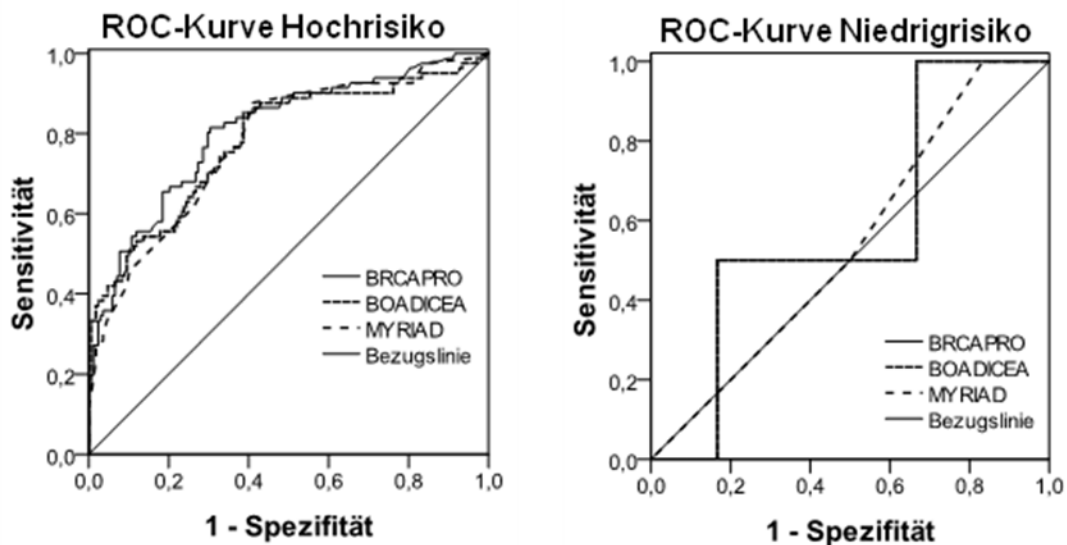
3.4.1. ROC- Kurven für unterschiedliche Risikoprofile

In der Publikation von Panchal et al. (2008) wurde das Gesamtkollektiv in zwei Subgruppen untergliedert, welche sich in ihren Risikoprofilen unterscheiden. Wir sind dieser Vorgehensweise gefolgt.

Der Hochrisikogruppe wurden Personen zugeordnet, die entweder selbst oder deren erstgradige Verwandte von einem *BRCA*- relevanten Tumorleiden betroffen sind. Auf das Hochrisikokollektiv entfallen in unserer Patientenpopulation 249 Personen.

Der Niedrigrisikogruppe wurden Personen zugeordnet, welche weder selbst betroffen sind, noch betroffene erstgradige Verwandte in der Familienanamnese aufweisen. Dieses Kollektiv umfasst in unserer Patientenpopulation allerdings lediglich 8 Patienten. Diese Zahl ist für eine statistische Analyse eigentlich nicht ausreichend. Wendet man das Verfahren trotzdem an, so ergeben sich für die zwei Subgruppen folgende ROC- Kurven:

Abb.13: Graphische Darstellung der ROC- Kurven für beiden Subgruppen, die Hochrisiko- und die Niedrigrisikogruppe



Tab.14: Ergebnisse der Berechnungen der Flächen unter den ROC- Kurven (AUC) für die Hochrisiko- und die Niedrigrisikogruppe. Dabei wurde ein Konfidenzintervall von 95% gewählt. Aufgrund der zu geringen Patientenzahl in der Niedrigrisikogruppe sind hier die Werte für die AUC nicht aussagekräftig.

Hochrisikogruppe		
Programm	AUC	Konfidenzintervall 95%
BRCAPRO	0,806	0,747 – 0,865
BOADICEA	0,781	0,716 – 0,846
MYRIAD	0,778	0,715 – 0,840
Niedrigrisikogruppe		
BRCAPRO	0,583	0,038 – 1,000
BOADICEA	0,583	0,038 – 1,000
MYRIAD	0,542	0,086 – 0,998

In der Hochrisikogruppe schneidet BRCAPRO am besten ab. Die Fläche unter der Kurve beträgt 0,806. Während BOADICEA hier einen Wert von 0,781 erreicht, schneidet MYRIAD mit einer AUC von 0,778 am schlechtesten ab. In der Niedrigrisikogruppe sind die Werte für die AUC nicht aussagekräftig. BRCAPRO (0,583), BOADICEA (0,583) und MYRIAD (0,542) erzielen Werte, die nur knapp größer sind als 0,5. Dies bedeutet, dass nur etwas besser als durch reinen Zufall entschieden wurde. Dass das Ergebnis aufgrund der geringen Stichprobenzahl nicht aussagekräftig ist, erkennt man aber am Konfidenzintervall, welches einen enormen Bereich von beinahe 0- 1 umspannt und folglich für den wahren Wert kaum eine Einschränkung macht.

3.4.2. Risikoberechnungen bei Patienten mit einer nachgewiesenen Mutation

Für die 48 Familien, bei denen eine Mutation in einem der beiden Gene *BRCA1* oder *BRCA2* detektiert wurde, bestimmten die Programme Risiken von 0,35%- 100%, Träger einer Mutation zu sein (s. Tab.15 (b)). Dabei berechnete BRCAPRO eine Risikospanne von 0,6%– 100% sowie ein durchschnittliches Risiko von 61,8%. In sieben Fällen ergaben die Berechnungen von BRCAPRO ein falsch negatives Ergebnis, d.h., dass trotz des Vorhandenseins einer Mutation ein Risiko von <10% bestimmt wurde.

BOADICEA berechnete Risikowerte von 0,35- 99,97% für Personen mit nachgewiesener Mutation. Im Mittel ergab sich ein Risiko von 57,6%. Dabei wurde in sechs Fällen ein falsch negatives Ergebnis berechnet.

MYRIAD errechnete Risikowerte von 2,8%- 79% mit einem mittleren Risiko von 28,56%. In sechs Fällen wurde auch hier ein Risiko von kleiner als 10% berechnet, obwohl eine Mutation vorlag.

In Tabelle 15 sind die kalkulierten Risiken der einzelnen Programme in Intervalle eingeteilt, um die Risikobeurteilungen detailliert darzustellen. Aus der Tabelle kann entnommen werden, in welchem Verhältnis die Patienten von den Programmen auf die einzelnen Risikokategorien aufgeteilt wurden und wie sich die drei Programme in ihrer Risikobewertung unterscheiden. Dabei wird zwischen Gesamtkollektiv, Patienten mit nachgewiesener Mutation und Patienten ohne nachgewiesene Mutation unterschieden. Die zugehörigen Daten sind auf Seite 57 dargestellt.

Für Personen mit Mutation bestimmt BOADICEA die wenigsten falsch negative Ergebnisse (11). BRCAPRO liefert ebenfalls nur wenige falsch negative Ergebnisse (12), während MYRIAD bei insgesamt 21 Personen ein falsch negatives Risiko berechnet. Weiterhin fällt auf, dass BOADICEA und BRCAPRO für den Großteil der Mutationsträger auch besonders hohe Risiken berechnen. BRCAPRO bestimmt für 49,4% der Mutationsträger ein Risiko größer 50%, BOADICEA liefert für einen Anteil von 43,4% ein Risiko von größer als 50%. MYRIAD liefert auch hier das schlechteste Ergebnis und bestimmt für 12% der Personen mit Mutation ein Risiko $> 50\%$. Definiert man als sehr hohes Risiko eines von $>30\%$, so errechnet BRCAPRO für 55 von 83 Personen (66,2%) ein sehr hohes Risiko, BOADICEA für 53 von 83 (62,1%) und MYRIAD für 23 Personen aus 83 Mutationsträgern (27,7%).

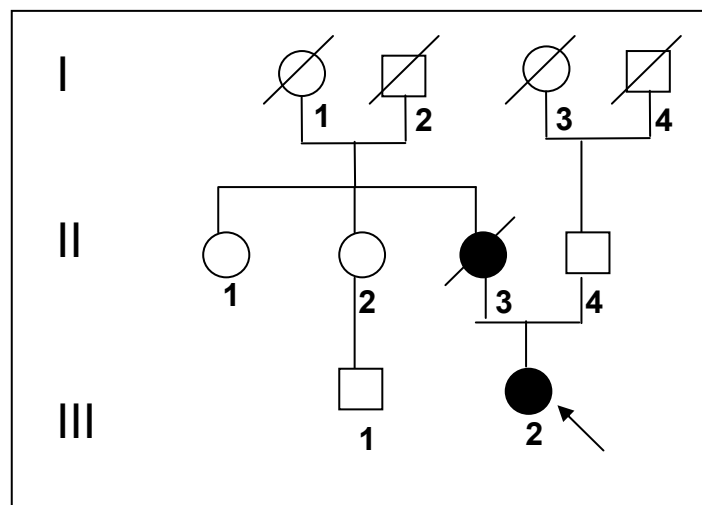
Tab.15: Auftrennung der Risikokalkulationen nach unterschiedlichen Risikointervallen für (a) das Gesamtkollektiv, (b) Personen mit nachgewiesener Mutation und (c) für Personen ohne nachgewiesene Mutation

	(a) Gesamt			(b) mit Mutation			(c) ohne Mutation		
	BRCAPRO	BOADICEA	MYRIAD	BRCAPRO	BOADICEA	MYRIAD	BRCAPRO	BOADICEA	MYRIAD
< 5%	85 (33%)	58 (22,6%)	42 (16,3%)	8 (9,6%)	9 (10,8%)	7 (8,4%)	77 (44,3%)	49 (28,1%)	35 (20,1%)
5 - 10%	26 (10,1%)	41 (16%)	91 (35,4%)	4 (4,8%)	2 (2,4%)	14 (16,9%)	22 (12,6%)	39 (22,41%)	77 (44,3%)
10 - 15%	10 (3,9%)	20 (7,8%)	38 (14,8%)	2 (2,4%)	2 (2,4%)	13 (15,7%)	8 (4,6%)	18 (10,3%)	20 (11,5%)
15 - 20%	14 (5,4%)	20 (7,8%)	48 (18,7%)	2 (2,4%)	9 (10,8%)	20 (24%)	12 (6,9%)	11 (6,3%)	33 (19%)
20 - 30%	22 (8,6%)	24 (9,3%)	9 (3,5%)	12 (14,5%)	9 (10,8%)	6 (7,2%)	10 (5,7%)	15 (8,6%)	6 (3,4%)
30 - 40%	20 (7,8%)	28 (10,9%)	16 (6,2%)	6 (7,2%)	9 (10,8%)	11 (13,3%)	14 (8%)	19 (10,9%)	2 (1,1%)
40 - 50%	22 (8,6%)	16 (6,2%)	3 (1,1%)	8 (9,6%)	7 (7,9%)	2 (2,4%)	14 (8%)	9 (5,2%)	1 (0,6%)
> 50%	58 (22,6%)	50 (19,5%)	10 (3,9%)	41 (49,4%)	36 (43,4%)	10 (12%)	17 (9,8%)	14 (8%)	0 (0%)
total	257			83			174		

3.4.3. Falsch negative Risikokalkulationen

Falsch negative Ergebnisse beschreiben die Personen, für die ein Risiko von $< 10\%$ errechnet wurde, obwohl bei den o.g. Untersuchungen eine Mutation nachgewiesen wurde. Im Folgenden werden nun die Stammbaumbespiele zu den falsch negativen Ergebnissen vorgestellt.

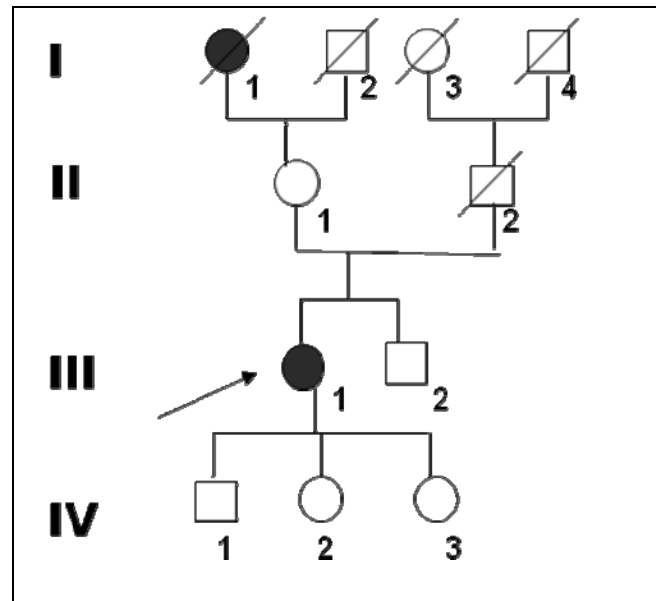
Abb.14: Stammbaum der Familie 32319. Falsch negative Risikokalkulation durch drei Programme.



In der Familie 32319 (s. Abb.14) war die Indexpatientin (III.2) mit 67 Jahren an Brustkrebs erkrankt. Ihre Mutter (II.3) war ebenfalls von einem Brustkrebs im Alter von 50 Jahren betroffen. Eine Tante mütterlicherseits (II.1) erkrankte an Gebärmutterhalskrebs und ein Cousin (III.1) an einem Blasen- oder Pankreaskarzinom, welches von der Ratsuchenden nicht näher definiert werden konnte. In der molekulargenetischen Untersuchung wurde für diese Familie die Mutation c.4512insT in Exon 11 des *BRCA2*- Gens gefunden.

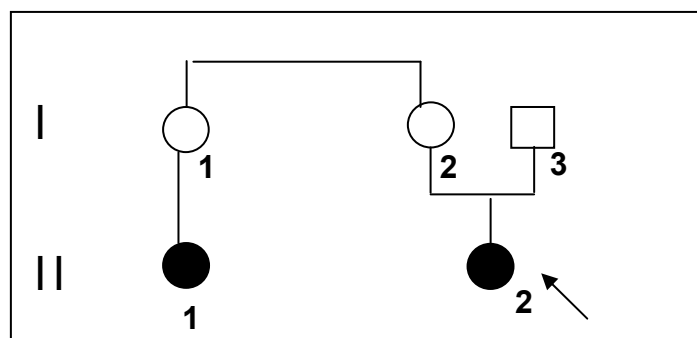
Für diese Familienkonstellation errechneten alle Programme ein Risiko von kleiner als 10%: BRCAPRO 0,6%, BOADICEA 1,76% und MYRIAD 2,90%.

Abb.15: Stammbaum der Familie 30095. Falsch negative Risikokalkulation durch MYRIAD.



In der Familie 30095 (Abb.15) war die Indexpatientin (III.1) von beidseitigem Brustkrebs mit 39 und 64 Jahren betroffen. Der Vater (II.2) soll eventuell an Krebs erkrankt gewesen sein, nähere Angaben konnten jedoch nicht erhalten werden. Auch die Großmutter mütterlicherseits (I.1) soll von beidseitigem Brustkrebs im Alter von 60 bzw. 65 Jahren betroffen gewesen sein. Bei der molekulargenetischen Untersuchung der Indexpatientin wurde die Mutation c.4086C>T in Exon 11 des *BRCA1*- Gens nachgewiesen. Während BRCAPRO und BOADICEA hohe Risikowerte von jeweils 97,9% bzw. 51,1% errechneten, ist das von MYRIAD errechnete Risiko falsch negativ mit einem Wert von 2,1%.

Abb.16: Stammbaum der Familie 30054. Falsch negative Risikokalkulation durch drei Programme.

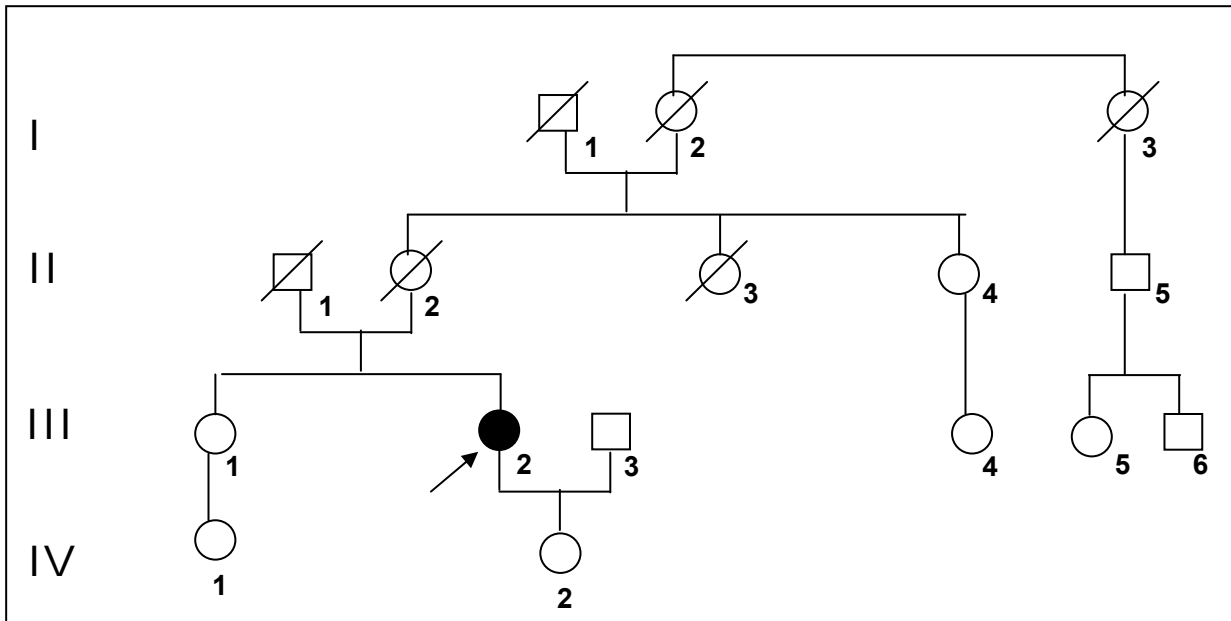


Zur Familienanamnese der Familie 30054 (s. Abb.16) gibt es nur wenige anamnestische Angaben. Die Indexpatientin (II.2) erkrankte im Alter von 35 Jahren an Brustkrebs, eine Cousine (II.1) mütterlicherseits war von Eierstockkrebs und Brustkrebs betroffen. Das Erkrankungsalter der Cousine sowie weitere Details zur Familienanamnese sind nicht

bekannt. Bei der Analyse des *BRCA2*- Gens der Indexpatientin fand sich in Exon 11 die Mutation c.4512insT.

Für diesen Stammbaum lieferten alle drei Programme ein falsch negatives Ergebnis: BRCAPRO 3,8%, BOADICEA 4,14% und MYRIAD 6,8%.

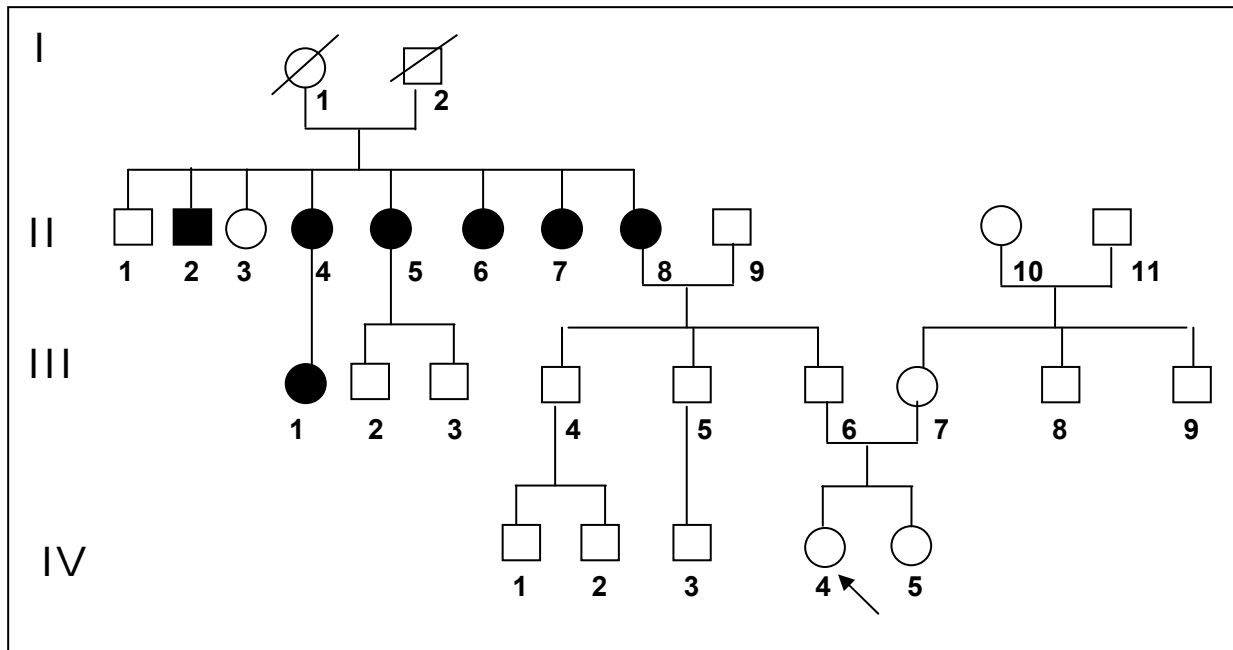
Abb.17: Stammbaum der Familie 26918. Falsch negative Risikokalkulation durch drei Programme.



In der Familie 26918 (Abb.17) war die Indexpatientin (III.2) mit 34 Jahren an Brustkrebs erkrankt, die Mutter (II.2) erkrankte mit 70 Jahren an Leukämie und die Großmutter mütterlicherseits (I.2) mit 65 Jahren an Magenkrebs. Bei der Indexpatientin konnte eine Deletion der Exons 22 bis 27 im *BRCA2*- Gen nachgewiesen werden.

Alle Programme ergaben falsch negative Ergebnisse: BRCAPRO errechnete ein Risiko von 1,2%, BOADICEA ein Risiko von 3% und MYRIAD 6,8%.

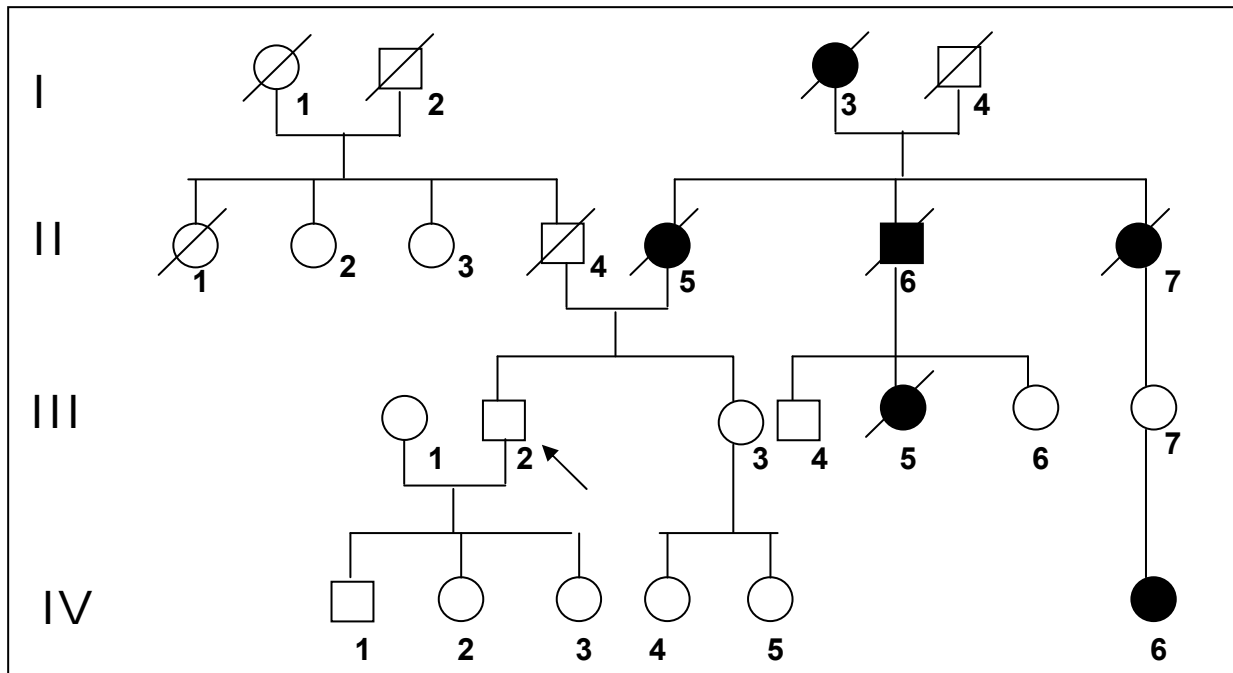
Abb.18: Stammbaum der Familie 20342. Falsch negative Risikokalkulation durch drei Programme.



In der Familie 20342 (s. Abb.18) war bereits bekannt, dass eine Großcousine der Ratsuchenden Anlageträgerin einer Mutation war, in der näheren Verwandtschaft der Ratsuchenden war jedoch nur die Großmutter (II.8) von beidseitigem Brustkrebs mit 47 Jahren betroffen. Allerdings war bei drei Großtanten und einer Großcousine (II.4, II.5, II.6, III.1) bereits in jungen Jahren Brustkrebs aufgetreten und ein Großonkel und eine Großtante (II.2, II.7) waren an Magenkrebs erkrankt. In dieser Familie wurde die Mutation c.4781delA in Exon 11 des *BRCA2*- Gens nachgewiesen.

Keines der Programme errechnete für die Ratsuchende ein erhöhtes Brustkrebsrisiko. BRCAPRO bestimmte ein Risiko von 5,3%, BOADICEA 4,96% und MYRIAD errechnete ein Risiko von 4,5%.

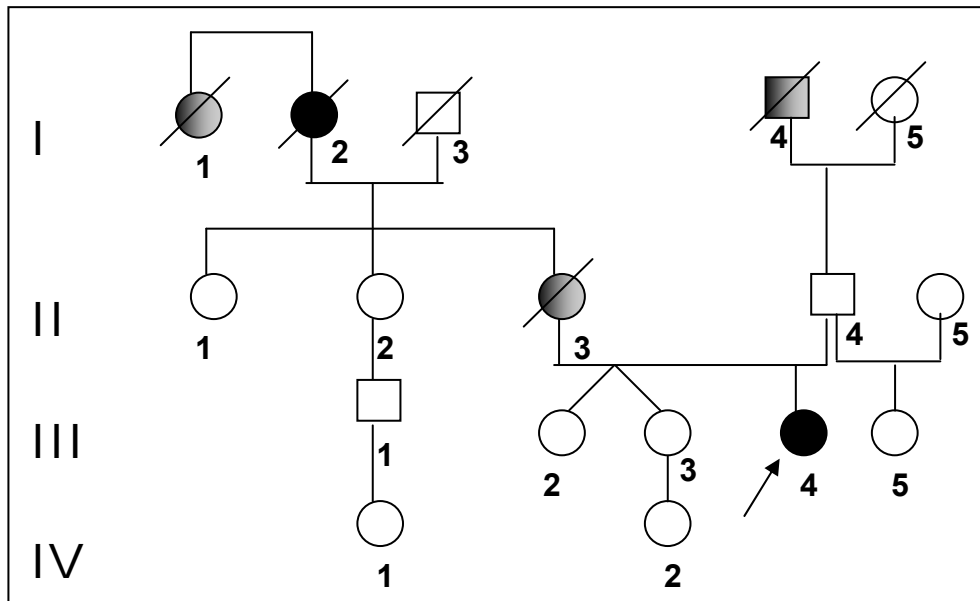
Abb.19: Stammbaum der Familie 11209. Falsch negative Risikokalkulation durch MYRIAD.



In der Familie 11209 (Abb.19) erkrankte der Vater (II.4) des männlichen Ratsuchenden (III.2) mit 42 Jahren an einem Melanom, seine Mutter (II.5) war von Brustkrebs mit 45 Jahren und von Magenkrebs mit 47 Jahren betroffen. Ein Onkel mütterlicherseits (II.6) erkrankte mit 73 Jahren an Brustkrebs. Ebenfalls erkrankten eine Cousine (III.5) mit 50 Jahren sowie eine Tante mütterlicherseits (II.7) mit 41 Jahren an Brustkrebs. Die Tochter einer Cousine (IV.6) erkrankte bereits mit 22 Jahren an Brustkrebs, und die Großmutter mütterlicherseits (I.3) war mit 70 Jahren von Brustkrebs betroffen. In dieser Familie wurde eine Deletion der Exons 15 und 16 des *BRCA2*- Gens gefunden.

Die Berechnungen von BRCAPRO und BOADICEA ergaben in diesem Fall erhöhte Risiken (34,2% bzw. 25,8%), wohingegen MYRIAD ein falsch niedriges Risiko von 8,7% berechnete.

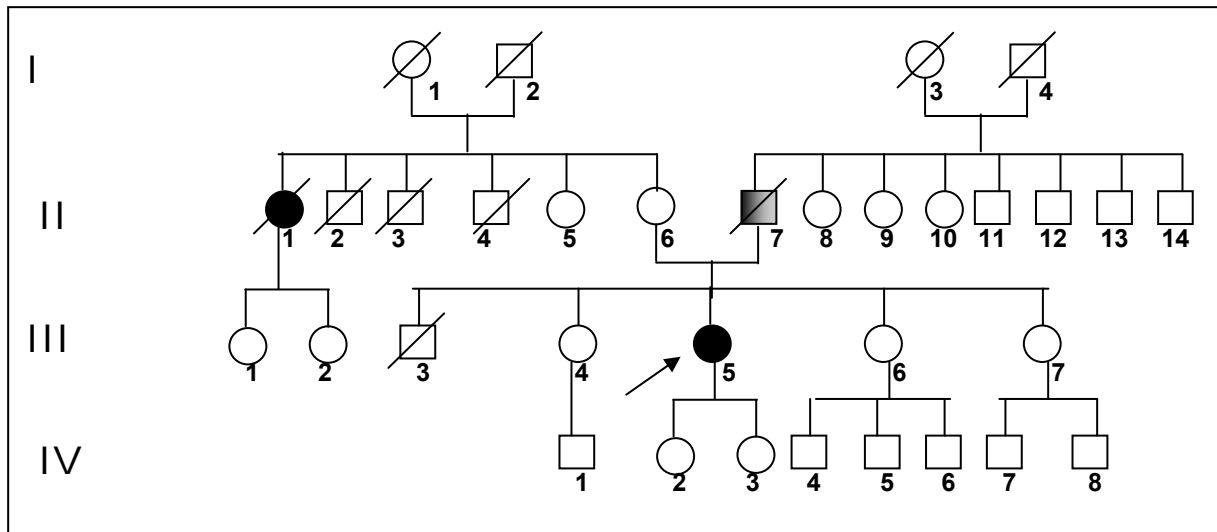
Abb.20: Stammbaum der Familie 30035. Falsch negative Risikokalkulation durch BRCAPRO.



In der Familie 30035 (Abb.20) ist die Indexpatientin (III.4) mit 34 Jahren an einseitigem Brustkrebs erkrankt, ihre Mutter (II.3) an einem Tubenkarzinom mit 53 Jahren, die Großmutter mütterlicherseits (I.2) an Brustkrebs mit 42 Jahren und auch die Großtante (I.1) war von einem nicht näher definierbaren Krebsleiden betroffen. In der väterlichen Linie war allein der Großvater (I.4) an einem Darmkrebs im Alter von 80 Jahren erkrankt. Bei der Indexpatientin wurde die Mutation c.3600del GAAGATACTAG im Exon 11 des *BRCA1*-Gens gefunden.

Für diese Familie errechnete nur BRCAPRO ein falsch negatives Ergebnis mit einem Risiko von 8,20%, während BOADICEA ein Risiko von 12,88% und MYRIAD ein Risiko von 15,80% bestimmten.

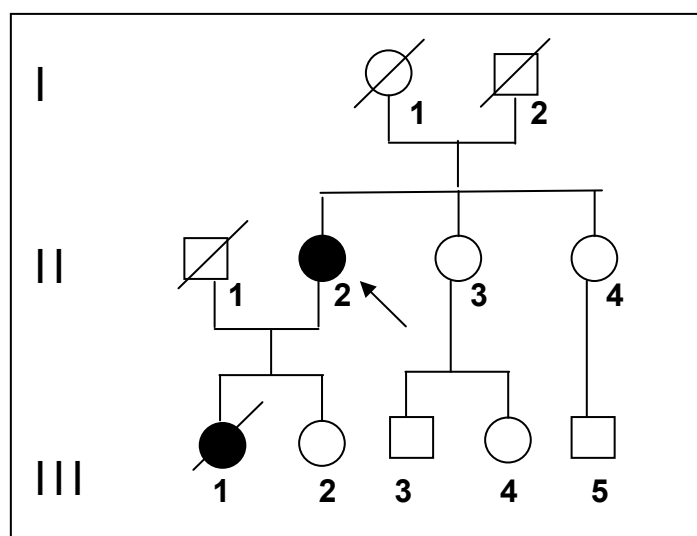
Abb.21: Stammbaum der Familie 11176. Falsch negative Risikokalkulation durch BRCAPRO und BOADICEA.



In der Familie 11176 (Abb.21) sind sowohl die Indexpatientin (III.5) als auch eine Tante mütterlicherseits (II.1) mit 40 Jahren an Brustkrebs erkrankt. Der Vater (II.7) erkrankte mit 43 Jahren an Magenkrebs. Es fand sich bei der Indexpatientin die Mutation c.300 T>G in Exon 5 des *BRCA1*-Gens.

Für diese Familie errechneten sowohl BRCAPRO als auch BOADICEA falsch negative Ergebnisse. BRCAPRO ermittelte ein Risiko von 2,3%, BOADICEA ein Risiko von 8,2%. Lediglich MYRIAD bestimmte ein erhöhtes Risiko von 15,8% für diese Familie.

Abb.22: Stammbaum der Familie 11161. Falsch negative Risikokalkulation durch BRCAPRO und BOADICEA.



In der Familie 11161 (Abb.22) waren die Indexpatientin mit 81 Jahren (II.2) und ihre Tochter (III.1) mit 47 an Eierstockkrebs erkrankt. Hier wurde die Mutation c.4457insA in Exon 11 des

BRCA2- Gens nachgewiesen. BRCAPRO und BOADICEA lieferten falsch negative Ergebnisse mit 6,2% (BRCAPRO) bzw. 0,35% (BOADICEA). Einzig MYRIAD errechnete ein erhöhtes Risiko von 21,1%.

3.4.4. Patienten mit unauffälligem molekulargenetischen Befund

Bei 135 Familien bzw. 174 Personen unseres Kollektivs wurde in der molekulargenetischen Untersuchung keine Mutation nachgewiesen. Für diese Personen berechnete BRCAPRO eine Risikospanne von 0,0% bis 95,2%. Das mittlere Risiko beläuft sich dabei auf 18,5%. Die Risikospanne von BOADICEA umfasst für Personen ohne Mutation 0,23% bis 91,8%. Das mittlere Risiko beläuft sich dabei auf 18,6%. MYRIAD errechnete Risiken zwischen 2,8% und 46,5%. Dabei ergibt sich ein mittleres Risiko von 9,6%.

Wie aus Tabelle 14 (c) ersichtlich, errechnet BRCAPRO für 99 Personen bzw. für einen Anteil von 56,9% der Personen, bei denen keine Mutation nachgewiesen wurde, ein Risiko von <10%. Von diesen wird sogar für 77 Personen (44,3%) ein Risiko <5% ermittelt. BOADICEA bestimmt ein Risiko <10% für insgesamt 88 Personen (50,6%), davon für 49 (28,2%) ein Risiko <5%. MYRIAD erzielt hier den besten Wert mit 112 richtig negativen Ergebnissen (64,4%), davon wird für 35 Personen (20,1%) ein Risiko <5% berechnet.

Allerdings errechnen die Programme zum Teil auch hohe Risiken für Personen, bei denen in der molekulargenetischen Untersuchung keine ursächliche Mutation gefunden wurde. Ein sehr hohes Risiko (>30%) berechnet BRCAPRO für 45 Personen (25,9%), bei denen keine Mutation detektiert wurde, in 17 Fällen (9,8%) wird sogar ein Risiko >50% errechnet. BOADICEA bestimmt für 42 Personen (24,1%) ein sehr hohes Risiko, für 14 Personen (8%) ein Risiko von mehr als 50%. Auch hier schneidet das MYRIAD- Programm wieder am besten ab. Insgesamt wird nur für drei Personen (1,7%) ein sehr hohes Risiko bestimmt und keine Person erreicht ein Risiko von über 50%.

3.4.5. Risikokalkulationen bei Patienten mit großen genomischen *Rearrangements* (Deletionen und Duplikationen)

Es wurde bereits publiziert, dass große genomische *Rearrangements* in *BRCA1* mit sehr hohen a- priori- Risiken von BRCAPRO einhergehen (Verschi et al. 2007).

Wir untersuchten neben BRCAPRO ebenfalls die Risikokalkulationen der beiden anderen Programme für Patienten mit großen Deletionen oder Duplikationen von mehr als 20 Basenpaaren (s. Tab. 16).

In zehn Fällen bzw. in fünf Familien (die Indexpatienten sind grau unterlegt) wurden in unserem Kollektiv große genomische *Rearrangements* nachgewiesen. Es zeigte sich, dass alle Patienten mit Deletionen oder Duplikationen im *BRCA1*- Gen ein hohes Risikoprofil in BRCAPRO aufwiesen. Besonders für die Indexpatienten ergaben sich sehr hohe a- priori-

Risiken, wobei die niedrigste Wahrscheinlichkeit bei 71% lag, die höchste bei 100%. Die niedrigste Wahrscheinlichkeit im Gesamtkollektiv lag bei 22,2%.

Auch BOADICEA kalkulierte hohe Risiken für Patienten mit großen genomischen *Rearrangements* im *BRCA1*- Gen. Für die Indexpatienten liegt das niedrigste Risiko bei 84,5%, das höchste bei 99,97%. Betrachtet man alle untersuchten Patienten, so liegt der niedrigste Risikowert bei 15,64%.

Die Risikokalkulationen des MYRIAD- Programms zeigen ein schlechteres Ergebnis für große Deletionen oder Duplikationen im *BRCA1*- Gen. Für die Indexpatienten allein ergaben sich Risiken zwischen 39,2% und 79%, im Gesamtkollektiv jedoch waren drei falsch negative Ergebnisse enthalten, also Risiken kleiner als 10% trotz vorhandener Deletion oder Duplikation.

Von zwei Familien unseres Kollektivs mit großen genomischen *Rearrangements* im *BRCA2*- Gen wurde eine Familie von BRCAPRO (34,2%) und BOADICEA (25,77%) als Hochrisiko - Familie eingestuft, während MYRIAD ein Risiko von kleiner als 10% (8,7%) bestimmte. Für die zweite Familie (26918) errechnete keines der Programme ein erhöhtes Risiko (BRCAPRO 1,5%, BOADICEA 1,66%, MYRIAD 4,5%).

Tab.16: Patienten mit großen Deletionen und Duplikationen und Mutationswahrscheinlichkeiten kalkuliert mit BRCAPRO, BOADICEA und MYRIAD. Dabei sind die Angaben zu Indexpatienten jeweils grau unterlegt.

Patienten mit großen Deletionen oder Duplikationen						
Pat.nr.	Veränderung <i>BRCA1</i>	Familienanamnese	Verwandtschaftsgrad zur Indexpatientin	BRCAPRO	BOADICEA	MYRIAD
26900	Exon 1- 4 del	Pat. BK bds. 41 u 63, Tochter BK 41, Tante(m) Unterleibskrebs 54, Tante(m) BK 70, Tante(m) Hirntumor 72, Großmutter (m) Leberkrebs 62, Großvater Magenkrebs 50, Cousine BK bds. 51 u 56	Index	71,00	84,05	39,20
26968	Exon 1- 4 del		1° (Tochter)	22,20	15,92	8,70
26969	Exon 1- 4 del		1° (Tochter)	43,50	31,02	15,80
32307	Exon 1- 4 del		2° (Enkel)	22,40	15,64	8,70
32308	Exon 1- 4 del		2° (Enkel)	22,40	15,66	8,70
30081	Exon 2 del	Pat. BK 27, Mutter BK bds. 31 u 33, OK u Endometriuskarzinom 42, Großmutter (m) Cervixkarzinom 42, Vater Hodentumor 31, Großmutter (p) BK 70	Index	97,9	97,56	39,2
32310	Exon 13 dup	Pat. BK 42 u 45 und Endometriuskarzinom 49, Schwester BK bds 29, Mutter OK 69, Großvater(m) Magenkrebs 69, Großtante(m) BK	Index	100,00	99,97	79,00
	Veränderung <i>BRCA2</i>					
26918	Exon 22- 27 del	Pat. BK 34, Mutter Leukämie 70, Großmutter Magenkrebs 64	Index	1,20	3,00	6,80
30021	Exon 22- 27 del		1° (Tochter)	1,50	1,66	4,50
11209	Exon 15- 16 dup	Vater Melanom 42, Mutter BK 45 und Magenkrebs 47, Tante (m) BK 73, Cousine BK 50, Tante(m) BK 41, Tochter der Cousine BK 22, Großmutter(m) Darmkrebs 70	Index	34,20	25,77	8,70

Legende: del= Deletion, dup= Duplikation

4. Diskussion

4.1. Patientenkollektiv, Mutationsdetektionsrate, Mutationen

In unserer Studie untersuchten wir die Relevanz der Programme BRCAPRO, BOADICEA und MYRIAD bei Personen, die von uns wegen des Verdachts auf familiären Brust- und Eierstockkrebs genetisch beraten und molekulargenetisch untersucht worden waren. Das Kollektiv umfasst 257 Patienten. Dabei ermittelten wir eine Mutationsdetektionsrate von 26%, welche mit der Mutationsdetektionsrate des Deutschen Konsortiums für Familiären Brust- und Eierstockkrebs von 25% vergleichbar ist.

Die Mutation, die wir am häufigsten in unserem Patientenkollektiv finden konnten, war die Mutation c.5382insC in Exon 20 des *BRCA1*- Gens. Diese Mutation tritt bekanntermaßen gehäuft bei deutschen Brustkrebspatienten auf (Backe et al. 1999), und sie stellt in der BIC-*Database* die zweithäufigste Mutation im *BRCA1*- Gen überhaupt dar. Górski et al. (2000) beschrieben diese Mutation als polnische Gründermutation, die 51% ihrer gefundenen Mutationen ausmacht. Die geographische Nähe zu Deutschland legt nahe, dass dies die Ursache für das gehäufte Auftreten in unserem Patientenkollektiv ist. Des Weiteren wurde die Mutation c.185delAG in Exon 2 des *BRCA1*- Gens insgesamt viermal in unserem Kollektiv nachgewiesen. Bei dieser Mutation handelt es sich um eine Ashkenasim- jüdische Gründermutation, die zu den beiden am häufigsten auftretenden Mutationen innerhalb der Ashkenasim- jüdischen Bevölkerung zählt (Roa et al. 1996). Diese Mutation wird in der BIC-*Database* als die häufigste *BRCA1*- Mutation aufgelistet.

Patienten mit auffälligem Befund in der molekulargenetischen Untersuchung wiesen erwartungsgemäß eine positive Familienanamnese auf.

Bei einigen Patienten wurde die ursächliche Mutation in der OCCR des *BRCA2*- Gens detektiert. Für diese Region wird ein besonderer Phänotyp beschrieben, der mit einem erhöhten Risiko für Eierstockkrebs sowie einem verminderten Risiko für Brustkrebs einhergeht. Diese Aussage konnten wir nicht bestätigen, allerdings waren in unserem Kollektiv auch nur sieben Familien von einer Mutation in dieser Region betroffen.

4.2. Die statistische Auswertung

4.2.1. Sensitivität und Spezifität, Youden Index, ROC und AUC

Für die statistische Evaluation bestimmten wir die Sensitivität, die Spezifität, die ROC- Kurve

und den Youden Index.

Sowohl die Sensitivität als auch die Spezifität sind abhängig vom angesetzten Schwellenwert. Wählt man einen niedrigen Schwellenwert, z.B. 1%, so strebt die Sensitivität gegen 100%, da alle Mutationen gefunden werden, wenn alle Probanden untersucht werden. Auf der anderen Seite strebt die Spezifität gegen 100%, je höher man den Schwellenwert ansetzt. Folglich lässt sich eine höhere Sensitivität auf Kosten einer niedrigeren Spezifität erreichen. Eine hohe Sensitivität ist für unsere Programme besonders wichtig, da das Übersehen einer Mutation (z.B. aufgrund eines zu hoch angesetzten Schwellenwerts), ein sogenanntes falsch negatives Ergebnis, zur Folge hat, dass der Betroffene nicht molekulargenetisch untersucht wird und ihm und seinen Angehörigen konsekutiv wichtige präventive Maßnahmen vorenthalten werden.

Ein niedriger Schwellenwert geht gleichzeitig mit einer höheren Anzahl falsch positiver Ergebnisse einher. Dabei handelt es sich um Patienten, deren Risiko trotz fehlender Mutation den Grenzwert übersteigt, welcher für die Indikationsstellung für eine molekulargenetische Untersuchung festgelegt wurde. Eine derartige Konstellation kann prinzipiell in unserem Fall toleriert werden, da die Untersuchung für den Patienten ein vertretbar geringes gesundheitliches Risiko in Form einer Blutentnahme darstellt. Jedoch stellen die hohen Kosten, die mit der Untersuchung verbunden sind, einen ökonomischen Faktor dar, der es sinnvoll erscheinen lässt, die Spezifität zur Vermeidung überflüssiger Untersuchungen möglichst hoch zu halten.

Tab.18: Ergebnisse unserer Untersuchungen für AUC und Sensitivität, Spezifität und Youden Index bei einem Schwellenwert von 10% Risiko. Das jeweils beste Ergebnis eines Programmes in einer statistischen Untersuchung ist grau unterlegt.

Programm	BOADICEA	BRCAPRO	MYRIAD
Sensitivität	86,7%	85,5%	74,7%
Spezifität	50,6%	56,9%	64,4%
Youden Index	0,373	0,424	0,391
AUC	0,777	0,803	0,771

In Tabelle 18 sind die Ergebnisse unserer Untersuchungen zusammengefasst, der jeweils beste Wert ist grau unterlegt. Bei dem international anerkannten Schwellenwert von 10% schneidet BOADICEA bezüglich der Sensitivität des Programms am besten ab. Allerdings liegt die Sensitivität von BRCAPRO nur geringfügig darunter. MYRIAD erzielt den schlechtesten Wert für die Sensitivität, erreicht jedoch für die Spezifität den höchsten Wert. Diese Konstellation für MYRIAD kann dadurch erklärt werden, dass es in diesem Programm aufgrund der stark abstrahierten Familienanamnese schwieriger ist, ein hohes Risiko zu erreichen. In Tab.15 (Ergebnisteil) erkennt man, dass von MYRIAD im Gesamtkollektiv für mehr als die Hälfte der Ratsuchenden (51,7%) ein Risiko von <10% errechnet wird. Im

Gegensatz dazu wird bei BOADICEA für 38,6% und bei BRCAPRO für 33,1% der Ratsuchenden ein Risiko <10% bestimmt.

BRCAPRO liefert den zweithöchsten Wert für die Spezifität und BOADICEA schneidet am schlechtesten ab. Jedoch ist keines der Programme den anderen sowohl in der Sensitivität als auch in der Spezifität überlegen.

Berechnet man den Youden Index bei einem Schwellenwert von 10% für die drei Programme, so zeigt BRCAPRO das beste Verhältnis von Sensitivität zu Spezifität. Aufgrund der hohen Spezifität von MYRIAD schneidet dieses Programm als zweitbestes ab. BOADICEA erzielt hier den niedrigsten Wert.

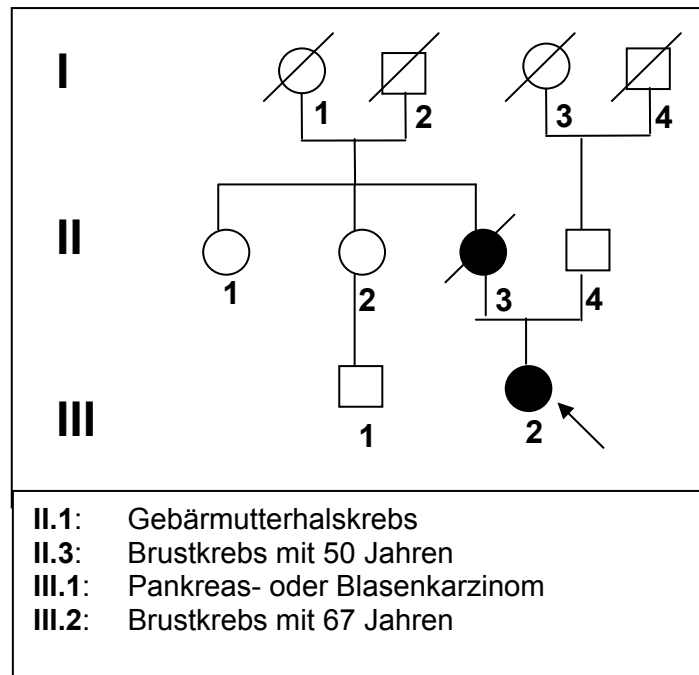
Vergleicht man die ermittelten Werte für die Fläche unter der ROC- Kurve (AUC), so liefert BRCAPRO auch hier das beste Ergebnis. BOADICEA und MYRIAD liegen gleichauf an zweiter Position. Jedoch unterscheiden sich die Werte nicht wesentlich.

4.2.2 Falsch negative Risikokalkulationen (errechnetes Risiko <10% mit einer nachgewiesenen Mutation im *BRCA1*- oder *BRCA2*- Gen)

Immer wieder kommt es vor, dass die Programme falsch niedrige Risiken berechnen. Dies ist insofern bedenklich, als Patienten, für die ein falsch niedriges Risiko bestimmt wird, nicht der molekulargenetischen Untersuchung zugeführt werden. Auf diese Weise bleiben Mutationen unentdeckt, was wiederum mit negativen Konsequenzen für die gesamte Familie behaftet ist, da ihnen präventive Maßnahmen vorenthalten werden.

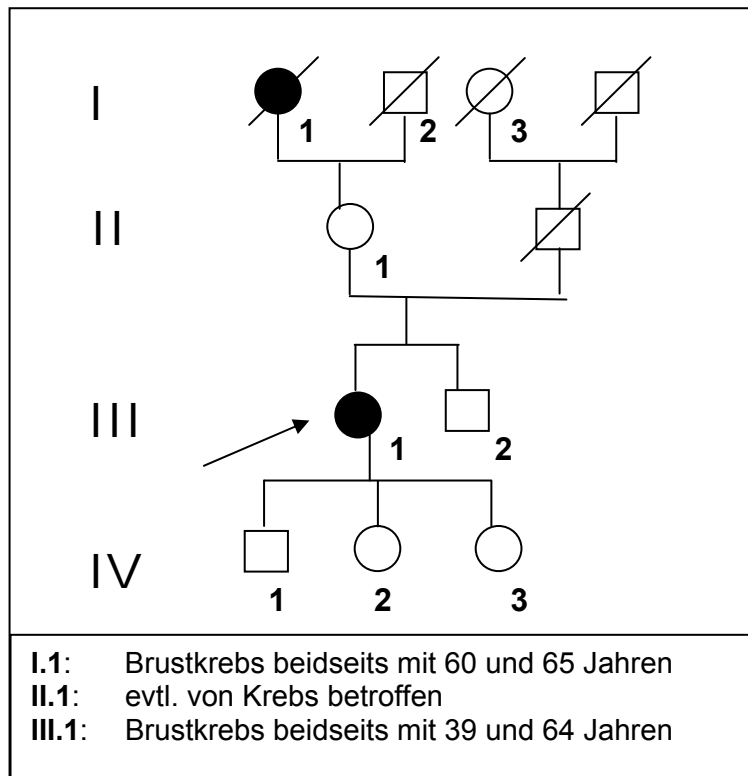
Daher stellt sich zunächst die Frage, wie es zu den Ungenauigkeiten der Programme kommen kann. Dies kann dadurch erklärt werden, dass nicht immer alle Informationen über die Ratsuchende berücksichtigt werden können. Die Eingabe sämtlicher Informationen wäre mathematisch, aber auch praktisch zu aufwendig. Ziel der Programme ist es, mit möglichst wenig Aufwand ein möglichst exaktes Ergebnis zu erzielen. Durch die Abstraktion der Familienanamnese kann es aber dazu kommen, dass auffällige Charakteristika der Familiengeschichte nicht berücksichtigt werden können, wie zum Beispiel betroffene Cousins oder Personen mit einem höheren Verwandtschaftsgrad. Im Folgenden wird anhand der Stammbäume von Personen, für die falsch niedrige Ergebnisse errechnet wurden, erklärt, wie es zu dieser Fehleinschätzung durch die Programme kommen kann.

Abb.23: Stammbaum der Familie 32319



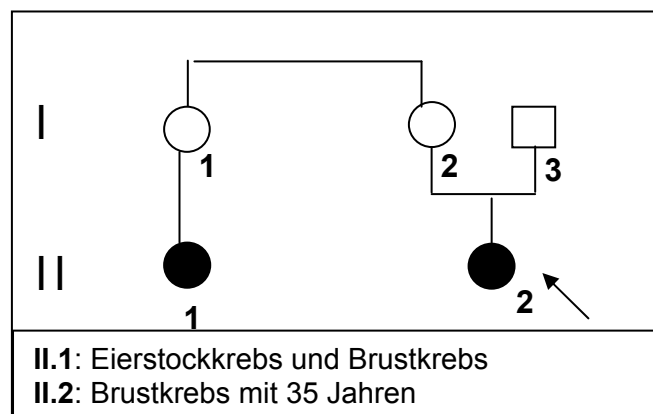
Für die Familienkonstellation der Familie 32319 in Abbildung 23 (Mutation c.4512insT in Exon 11 des *BRCA2*- Gens) errechneten alle Programme ein Risiko von <10% (BRCAPRO 0,6%, BOADICEA 1,76% und MYRIAD 2,90%). Der Cousin (III.1), der an einem Pankreaskarzinom erkrankte, wird aufgrund seines Verwandtschaftsgrades nicht von BRCAPRO und BOADICEA berücksichtigt. MYRIAD berücksichtigt keine anderen *BRCA*-relevanten Tumore als Brust- oder Eierstockkrebs, so dass ein Pankreaskarzinom auch hier nicht berücksichtigt wird. Ein Gebärmutterhalskrebs von II.1 zählt bei keinem der Programme zum *BRCA*- Tumorspektrum. Da die Indexpatientin erst nach dem 50. Lebensjahr an Brustkrebs erkrankte, fällt das Risiko gering aus. Die Indikationsstellung erfolgte anhand der klinischen Kriterien, da zwei Frauen an Brustkrebs erkrankt waren, eine davon vor dem 51. Lebensjahr.

Abb.24: Stammbaum der Familie 30095



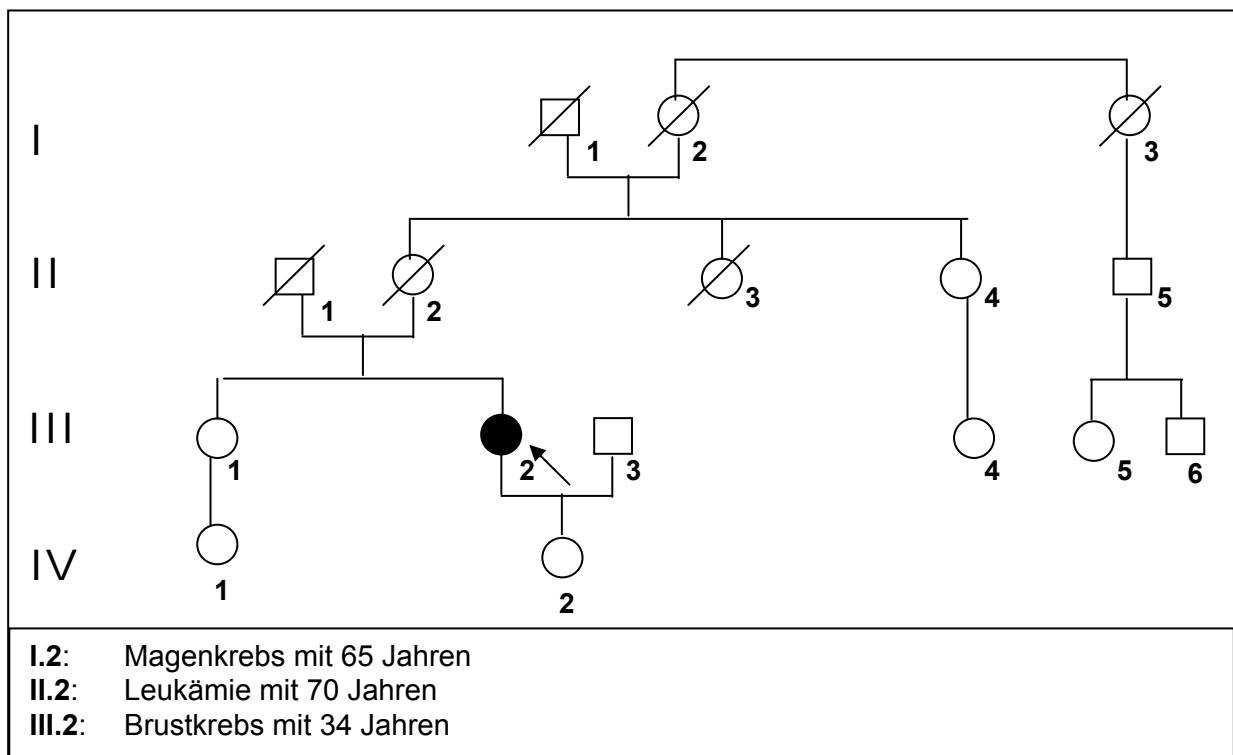
Für die Familie 30095 (Mutation c.4086C>T in Exon 11 des *BRCA1*- Gens) (s. Abb.24) errechneten BRCAPRO und BOADICEA hohe Risiken (97,9% bzw. 51,1%), jedoch errechnete MYRIAD ein falsch negatives Ergebnis (2,1%). Dies kann darin begründet sein, dass es im MYRIAD- Programm nicht möglich ist, anzugeben, ob bei einem Betroffenen einseitiger oder beidseitiger Brustkrebs bestand. Der beidseitige Brustkrebs der Indexpatientin (III.1) mit 39 und 64 Jahren sowie der beidseitige Brustkrebs der Großmutter (I.1) mit 60 bzw. 65 Jahren können nur als einseitig berücksichtigt werden. In diesem Fall fließt in die Berechnungen des MYRIAD- Programms lediglich das Vorliegen zweier Brustkrebserkrankungen ein, davon eine vor dem 50. Lebensjahr.

Abb.25: Stammbaum der Familie 30054



Zur Familienanamnese der Familie 30054 (Mutation c.4512insT in Exon 11 des *BRCA2*-Gens) (Abb.25) lagen nur wenige anamnestische Angaben vor. Das Erkrankungsalter der Cousine (II.1) sowie weitere Details zur Familienanamnese sind nicht bekannt. Für diesen Stammbaum lieferten alle drei Programme ein falsch negatives Ergebnis (BRCAPRO 3,8%, BOADICEA 4,14%, MYRIAD 6,8%), da hier lediglich die Indexpatientin (II.2) mit dem frühen Brustkrebs (<50 Jahre) berücksichtigt werden konnte. Die Cousine kann aufgrund des zu weit entfernten Verwandtschaftsgrades nicht erfasst werden. Es zeigte sich, dass es stets ein Problem darstellt, wenn anamnestische Angaben nur lückenhaft zur Verfügung stehen. Laut der klinischen Kriterien besteht jedoch die Indikation zur molekulargenetischen Untersuchung. Anhand dieses Beispiels kann gezeigt werden, dass das frühe Erkrankungsalter allein (<35 Jahre) kein erhöhtes Risiko in der Risikokalkulation der Programme liefern wird. In einer Studie aus den USA waren ca. 10,1% der Patientinnen mit einem Brustkrebs, die jünger als 35 Jahren waren, Trägerinnen einer Mutation in einem der beiden Gene (Malone et al. 1998). Auch die klinischen Leitlinien empfehlen eine molekulargenetische Untersuchung wenn eine Frau mit 35 Jahren oder jünger an Brustkrebs erkrankt.

Abb.26: Stammbaum der Familie 26918



Für die Ratsuchende der Familie 26918 (Deletion der Exons 22 bis 27 im *BRCA2*- Gen) (Abb.26) ermittelten alle drei Programme falsch negative Ergebnisse (BRCAPRO 1,2%, BOADICEA 3%, MYRIAD 6,8%). Aus dieser Familienanamnese geht nur die frühe

Brustkrebserkrankung der Indexpatientin (III.2) mit 34 Jahren in die Berechnungen ein. Die Leukämie der Mutter (II.2) und der Magenkrebs der Großmutter (I.2) werden nicht als *BRCA*-relevante Tumore gewertet. Auch hier wurde eine Untersuchungsindikation aufgrund der klinischen Leitlinien gestellt, da die Patientin mit 34 Jahren (≤ 35 Jahre) an Brustkrebs erkrankte.

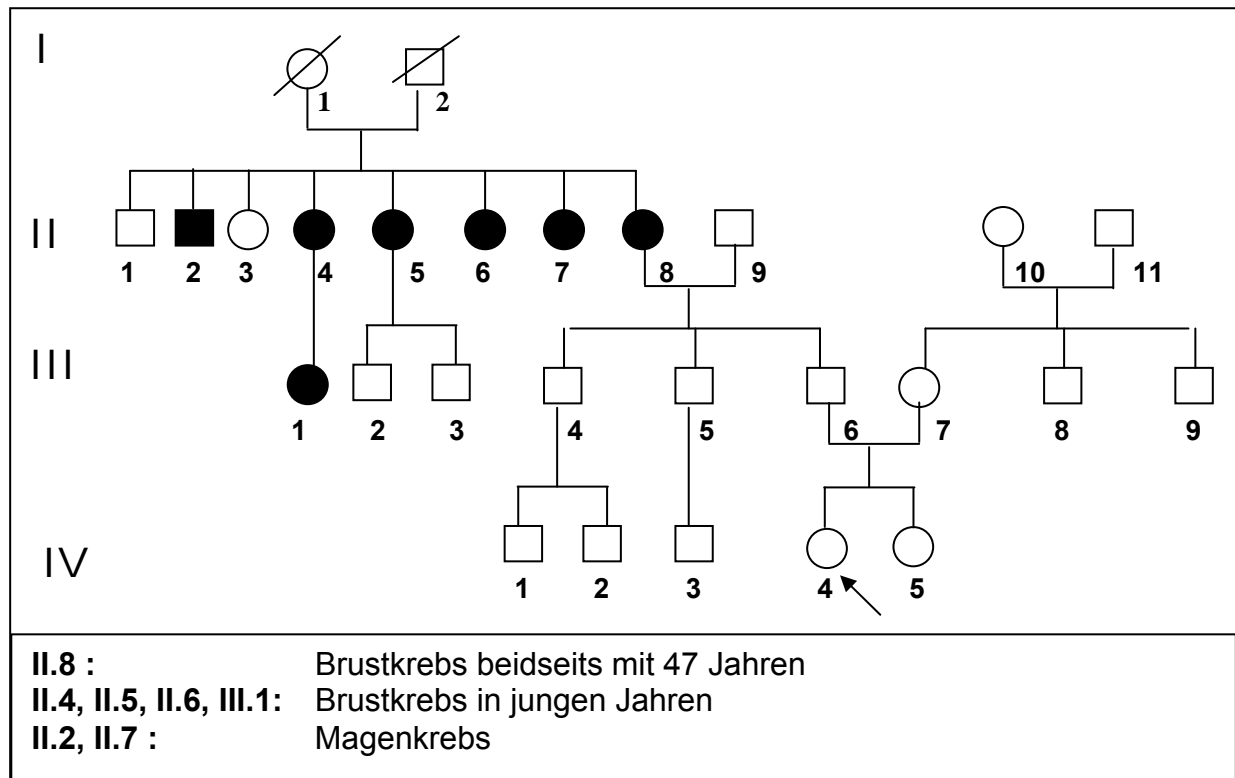
Aufgrund des für eine hereditäre Brust- und Eierstockkrebserkrankung untypischen Stammbaums mit nur einer Brustkrebserkrankung bei der Ratsuchenden (Indexpatientin), könnte es sich bei der Mutation um eine de- novo- Mutation handeln, d.h. dass die Veränderung in der Familie erstmals bei der Ratsuchenden aufgetreten ist. Hierzu muss allerdings ausgeschlossen sein, dass die Veränderung über ein Elternteil vererbt wurde. Die Mutter käme prinzipiell als Überträgerin in Frage, da in der Literatur eine Assoziation von verschiedenen Leukämietypen wie der chronisch lymphatischen Leukämie (CLL) (Rudd et al. 2006), der akuten myeloischen Leukämie (AML) oder der akuten lymphatischen Leukämie (ALL) (Alter et al. 2007) mit Mutationen im *BRCA2*- Gen beschrieben wurde. Jedoch macht das hohe Erkrankungsalter (mit 70 Jahren) das Vorliegen einer ursächlichen *BRCA2*-Mutation bei der Mutter relativ unwahrscheinlich.

Dass die Veränderung über den Vater vererbt wurde, kann ebenfalls nicht vollständig ausgeschlossen werden, da die Familienanamnese väterlicherseits nicht komplett erhoben werden konnte. Ob es sich um eine Neumutation handelt, kann grundsätzlich sicher anhand einer DNA- Probe beider Elternteile bestätigt werden. Ergibt die molekulargenetische Untersuchung der elterlichen Proben jeweils einen unauffälligen Befund, so ist die Veränderung mit größter Wahrscheinlichkeit erstmalig bei der Ratsuchenden aufgetreten. Leider standen für diese Familie keine elterlichen Proben für eine Analyse zur Verfügung.

De- novo- Mutationen sind sehr selten. Diez et al. (2010) beschreiben eine de- novo- Mutation in *BRCA2* und geben an, dass bisher, trotz der Vielzahl an bekannten Mutationen in *BRCA1* und *BRCA2*, lediglich vier Patienten mit sicheren de novo Mutationen, davon eine in *BRCA1* und drei in *BRCA2*, publiziert sind.

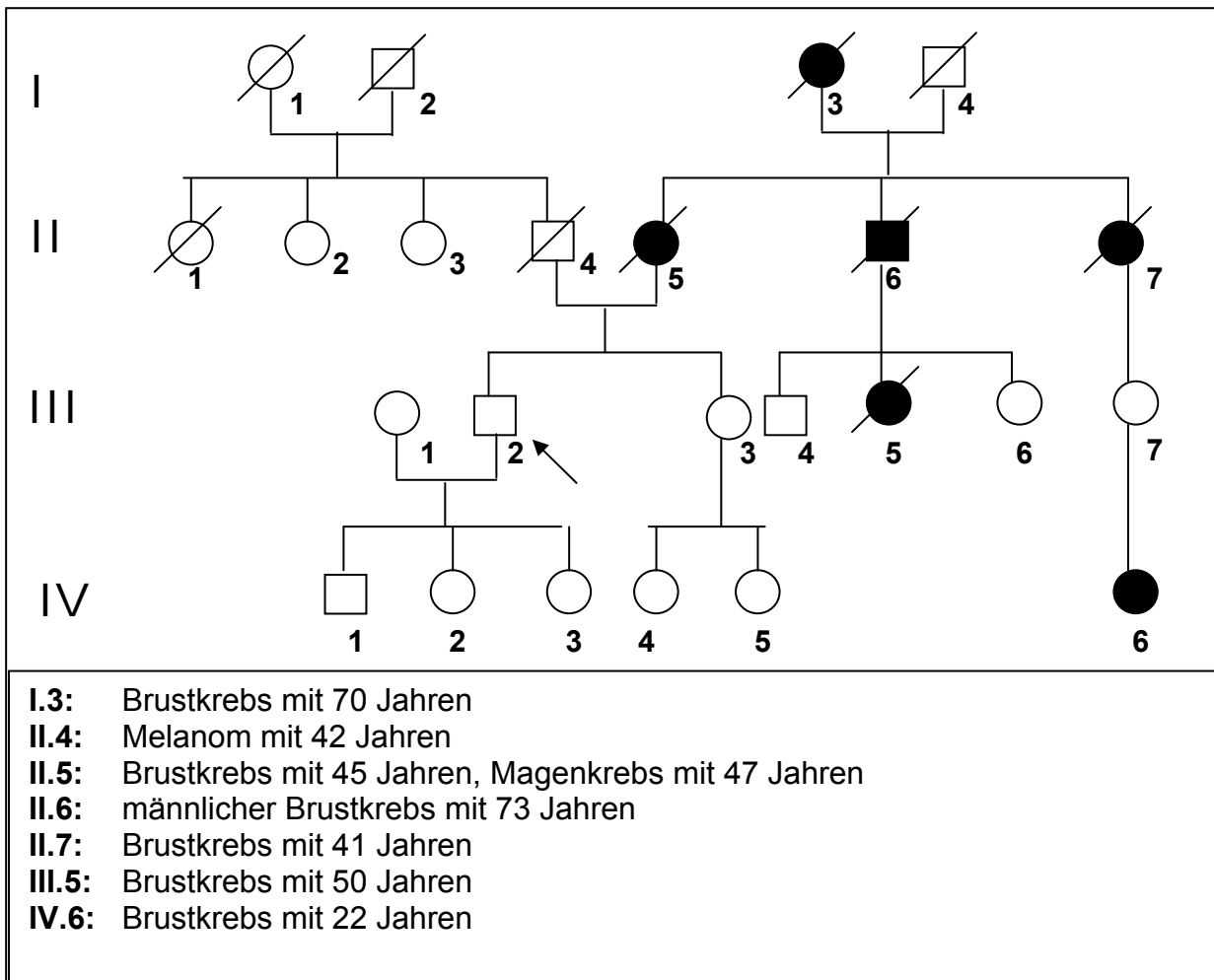
Die Schwierigkeit der Indikationsstellung für die molekulargenetische Untersuchung besteht also auch darin, dass es sich bei einem Betroffenen mit sonst unauffälliger Familienanamnese immer auch um das Vorliegen einer de- novo- Mutation handeln kann. Dies ist mit ein wichtiger Grund, weshalb man sich nicht ausschließlich auf die Risikokalkulationen der Programme, welche sich auf die Familienanamnese des Ratsuchenden stützen, verlassen sollte. Es ist durchaus möglich, dass eine Patientin Trägerin einer Mutation ist, auch wenn zuvor in ihrer Familie keine auffälligen Zeichen für das Vorliegen einer Mutation bestanden haben bzw. auch wenn sie die einzige mit auffälligen Charakteristika für eine hereditäre Brust- und Eierstockkrebserkrankung in ihrer Familie ist.

Abb.27: Stammbaum der Familie 20342



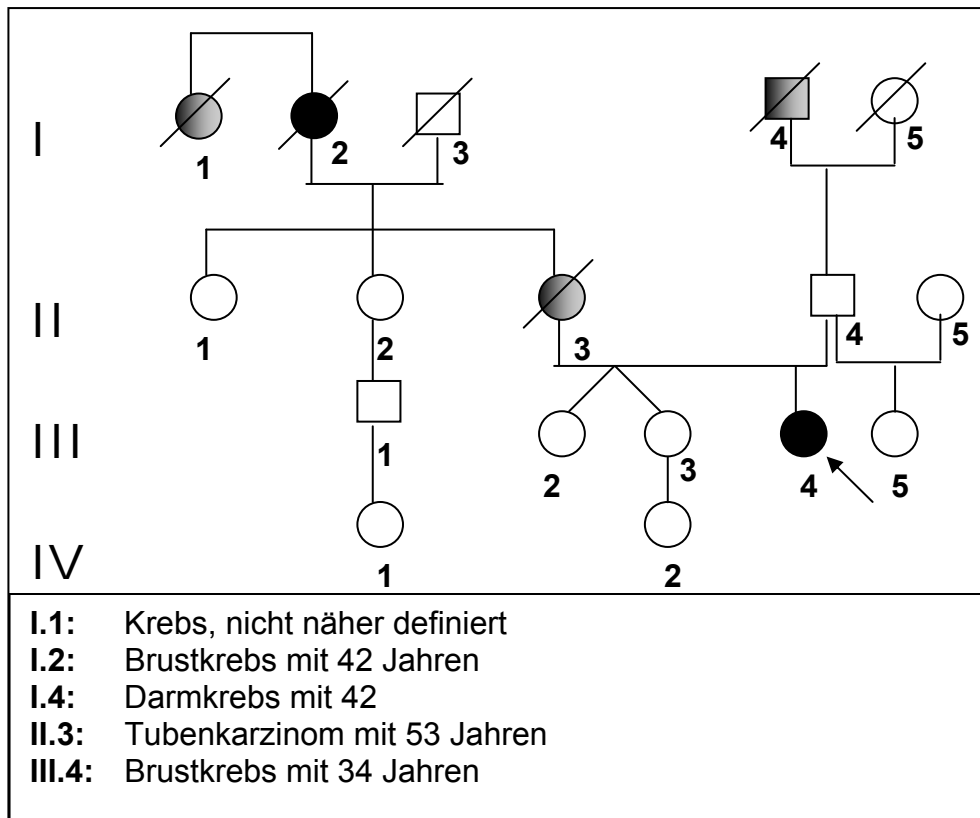
Für die Familie 20342 (Mutation c.4781delA in Exon 11 des *BRCA2*- Gens) (Abb.27) errechnete keines der Programme ein erhöhtes Brustkrebsrisiko für die Ratsuchende (BRCAPRO 5,3%, BOADICEA 4,96%, MYRIAD 4,5%). Dies kann dadurch bedingt sein, dass in die Risikoberechnung einzig die von beidseitigem Brustkrebs betroffene Großmutter (II.8) einbezogen wird, da die anderen Betroffenen in der Familie, wie die Großtanten (II.4, II.5, II.6 und II.7), der Großonkel (II.2) und die Großcousine (III.1), einen zu weit entfernten Verwandtschaftsgrad besitzen. Die klinischen Leitlinien stellen auch in diesem Fall die Indikation zur molekulargenetischen Untersuchung, da die Großmutter mit 47 Jahren (< 50 Jahre) an bilateralem Brustkrebs erkrankte.

Abb.28: Stammbaum der Familie 11209



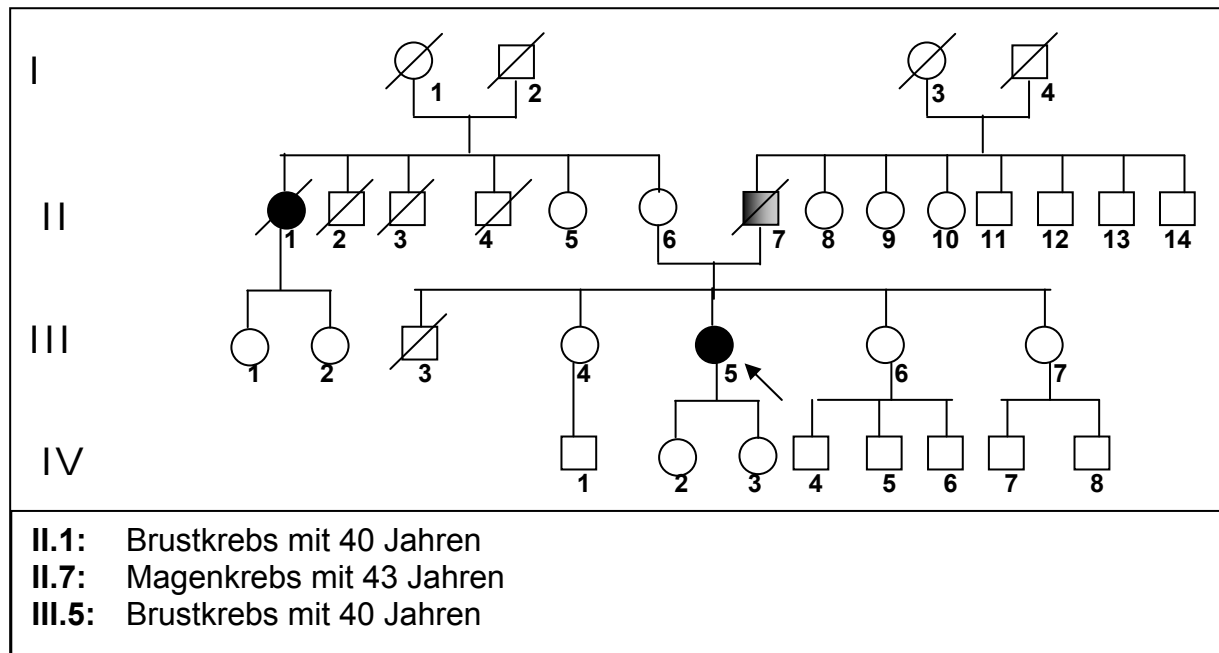
Für die Familie 11209 (Deletion der Exons 15 und 16 des *BRCA2*- Gens) (Abb.28) ergaben die Berechnungen von BRCAPRO und BOADICEA erhöhte Risiken (34,2% bzw. 25,8%), während MYRIAD ein falsch niedriges Risiko berechnete (8,7%). Diejenigen Personen, die in diesem Fall in die Berechnungen eingeschlossen werden, sind die Mutter (II.5) (Brustkrebs <50 Jahre), die Tante (II.7) und die Großmutter (I.3) mit einem Brustkrebs in höherem Alter (>50 Jahre). Im MYRIAD- Programm wird nur die Mutter, also eine Verwandte mit einem Brustkrebs <50 Jahren bewertet. Verwandte mit einem Brustkrebs >50 Jahre werden nicht berücksichtigt (s. MYRIAD- Test, Tab.6), weshalb das Risiko für diese Familie im MYRIAD- Programm sehr gering ausfällt.

Abb.29: Stammbaum der Familie 30035



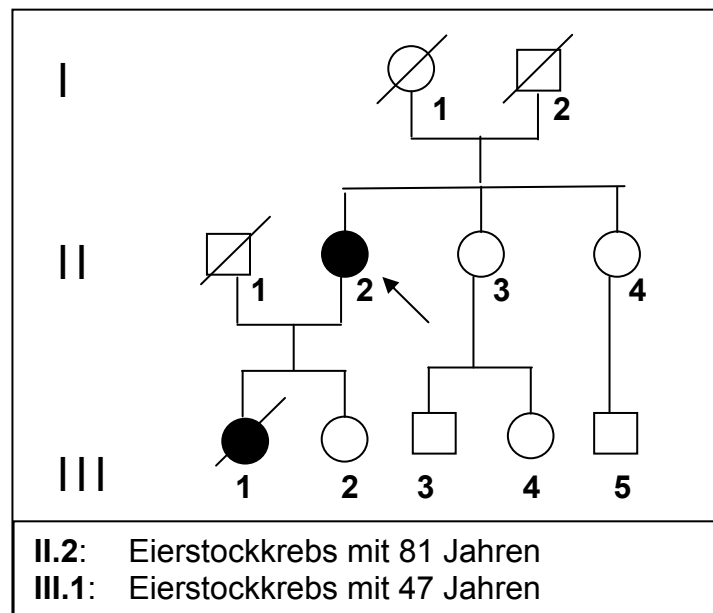
Für die Familie 30035 (Mutation c.3600del GAAGATACTAG in Exon 11 des *BRCA1*- Gens) (Abb.29) errechnet nur BRCAPRO ein falsch negatives Ergebnis (8,20%). BOADICEA und MYRIAD bestimmten ein richtig erhöhtes Risiko für die Ratsuchende (12,88% bzw.15,80%). Hier treten zwei frühe Brustkrebsfälle in der Familie auf. Eventuell ausschlaggebend für das falsch negative Ergebnis von BRCAPRO ist die Tatsache, dass das Tubenkarziom der Mutter nicht zum näheren *BRCA*- Tumorspektrum gezählt wird und damit das Risiko vermindert.

Abb.30 : Stammbaum der Familie 11176



Für die Familie 11176 (Mutation c.300 T>G in Exon 5 des *BRCA1*- Gens) (Abb.30) errechnen sowohl BRCAPRO als auch BOADICEA falsch negative Ergebnisse (2,3% bzw. 8,2%). Lediglich MYRIAD bestimmt ein erhöhtes Risiko (15,8%). Ausschlaggebend für die falsch niedrige Risikobewertung kann in diesem Fall die Tatsache gewesen sein, dass es in dieser Familie besonders viele gesunde Familienmitglieder gibt. Allein im Familienzweig der Mutter gibt es sechs Kinder, von denen nur eines betroffen ist. Die Indexpatientin hat noch drei Schwestern, von denen bislang keine an Brustkrebs erkrankt ist. Es kann nicht beantwortet werden, ob diese Mutation mit einer sehr stark reduzierten Penetranz einhergeht, was die geringe Anzahl von Brust- oder Eierstockkrebsfällen in der Familie erklären könnte.

Abb.31: Stammbaum der Familie 11161



Für die Familie 11161 (Abb.31) liefern BRCAPRO und BOADICEA falsch negative Ergebnisse, MYRIAD hingegen errechnet ein erhöhtes Risiko. Das falsch negative Ergebnis lässt sich am ehesten mit dem hohen Alter der Indexpatientin erklären, die erst mit 81 Jahren an Eierstockkrebs erkrankte. Im Gegensatz zu den beiden genetischen Modellen spielt es im MYRIAD- Programm keine Rolle, in welchem Alter eine Person an Eierstockkrebs erkrankt. Die klinischen Kriterien empfehlen auch in diesem Fall eine molekulargenetische Untersuchung, da zwei Frauen an Eierstockkrebs erkrankt sind. Der klare Vorteil der klinischen Indikationsstellung ist hier deutlich. Markante Charakteristika einer Familienanamnese können vom genetischen Berater stets berücksichtigt werden. Aus diesem Grund sollte sich der Nutzer von Risikokalkulationsprogrammen immer über deren Nachteile im Klaren sein und sich nie ausschließlich auf die Aussage der Risikoanalyse verlassen.

4.2.3. Falsch positive Risikokalkulationen

Oftmals wird ein sehr hohes Risiko errechnet, trotz der Tatsache, dass keine Mutation bei der molekulargenetischen Untersuchung gefunden wird. Es stellt sich die Frage nach dem Umgang bzw. der Bedeutung eines solchen Ergebnisses.

Für die familiäre Brust- und Eierstockkrebserkrankung gilt das Prinzip der genetischen Heterogenität. Das bedeutet, dass viele genetische Ursachen zu demselben Krankheitsbild führen. Es sind zwar einige Gene bekannt, deren Mutationen für einen Brust- oder Eierstockkrebs ursächlich sein können, allerdings weiß man auch, dass noch längst nicht alle Genloci bekannt sind. Erst kürzlich wurde mit dem *RAD51* das sog. *BRCA3*- Gen gefunden,

ein weiteres Gen, dessen Mutation zur Entstehung der familiären Brust- und Eierstockkreberkrankung disponiert. Man kann also davon ausgehen, dass bei einigen Ratsuchenden mit hohem Risiko Mutationen in noch unbekannt Genen bestehen. Ein Vorteil der Programme ist es, dass einem Ratsuchenden mit einem Risiko von >20% dieselbe Nachsorge empfohlen wird wie Patienten mit einer nachgewiesenen Mutation.

Es existieren allerdings Ansätze (z.B. *next generation sequencing*), die es in der Zukunft bei Verdacht auf eine hereditäre Ursache einer Krankheit möglich machen werden, das gesamte Genom zu sequenzieren. Diese befinden sich zwar noch immer in Entwicklung, erhalten aber nach und nach bei steigender Empfindlichkeit und sinkender Fehlerquote zunehmend Einzug in das Feld der genetischen Diagnostik, da sie es ermöglichen zeit- und kostensparend weite Bereiche des menschlichen Genoms zu analysieren (Morgan et al. 2010). Dies verspricht die Lokalisierung und Identifizierung von weiteren Kandidatengenen, sowohl für die hereditäre Brust- und Eierstockerkrankung als auch für viele andere hereditäre Krankheiten.

4.3. Subgruppeneinteilung

Durch Einteilung in eine Hoch- und eine Niedrigrisikogruppe wollten wir untersuchen, ob zwischen den Programmen Leistungsunterschiede auftreten, wenn sie an verschiedenen Risikogruppen getestet werden bzw. welches Programm für welche Risikogruppen die beste Leistung erzielt. Bei der Einteilung des Patientenkollektivs mussten wir jedoch feststellen, dass dies aufgrund der zu geringen Zahl an Personen in der Niedrigrisikogruppe nicht möglich war. Dies liegt darin begründet, dass unser Patientenkollektiv ein sehr hohes a-priori-Risiko aufweist. In der Brustkrebssprechstunde wird eine molekulargenetische Diagnostik nur für Patienten angeboten, welche aufgrund ihrer Familienanamnese ein erhöhtes Risiko aufweisen. Personen mit niedrigen Risiken werden gar nicht erst zur Testung zugelassen und sind deshalb auch nicht in unserem Kollektiv enthalten. Aus diesem Grund ist unsere Stichgruppe bereits aufgrund des a-priori-Risikos von der normalen Bevölkerung selektioniert. Letztendlich konnte die Leistung der Programme lediglich bei Hochrisikopatienten überprüft werden, weshalb wir keine Empfehlung darüber abgeben können, welches Programm im Fall eines Niedrigrisikopatienten am besten geeignet ist. Im Laufe der Untersuchungen zeigte sich, dass die Programme schlechtere Ergebnisse liefern, je niedriger das Risikoprofil der zu untersuchenden Subgruppe war. Daraus lässt sich folgern, dass es sich bei den Risikokalkulationsprogrammen nicht um solche diagnostische Tests handelt, die sich zum Massenscreening, z.B. der Normalbevölkerung, eignen. Für unsere Risikosprechstunde stellen sie dagegen eine gute Methode dar, indem sie als Entscheidungshilfe für die Patienten und den genetischen Berater dienen können.

4.4. Einordnung unserer Ergebnisse in die bisher publizierten Ergebnisse verschiedener Risikokalkulationsprogramme

Hierzu wurden bereits in der internationalen Literatur einige Publikationen vorgelegt. In Deutschland gibt es hierzu bislang keine Informationen.

Antoniou et al. (2008) evaluierten die Modelle BRCAPRO, BOADICEA, MYRIAD, IBIS sowie das Manchester Scoring System anhand einer Stichprobe von 1934 Familien mit auffälliger Familienanamnese, die in insgesamt sechs genetischen Zentren in Großbritannien molekulargenetisch untersucht worden waren. Panchal et al. (2008) evaluierten die Programme BRCAPRO, Manchester, Penn II, MYRIAD II, FHAT, IBIS und BOADICEA anhand einer Stichprobe von 300 Personen in Kanada. In einer weiteren Studie wurden die Ergebnisse der Programme BRCAPRO und MYRIAD von 200 asiatischen Personen mit einer Kontrollgruppe von 200 weißen Personen verglichen (Kurian et al. 2008). Kang et al. (2006) untersuchten die Programme BRCAPRO, Manchester, Penn und MYRIAD an 380 Personen in Sydney, Australien. Außerdem untersuchten Capalbo et al. (2006) die Ergebnisse der Programme BRCAPRO, IC und MYRIAD anhand von 99 getesteten Personen aus italienischen Familien mit hereditärer Brust- und Eierstockkrebserkrankung.

Tab.17: Vergleich unserer Ergebnisse für die AUC mit internationalen Studien an (a) britischen, (b) kanadischen, (c) australischen, (d) asiatischen, (e) US- amerikanischen und (f) deutschen Bevölkerungsgruppen. Die von uns erhobenen Daten sind dabei grau unterlegt.

AUC	(a)	(b)	c	d	e	f
BRCAPRO	0,76 (0,73-0,79)	0,76 (0,70-0,82)	0,74 (0,672-0,814)	0,71 (0,63-0,80)	0,77 (0,66-0,88)	0,80 (0,745-0,862)
BOADICEA	0,77 (0,74-0,80)	0,74 (0,67-0,80)				0,78 (0,713-0,841)
MYRIAD	0,72 (0,69-0,75)	0,76 (0,71-0,82)	0,75 (0,680-0,827)	0,67 (0,59-0,76)	0,78 (0,67-0,89)	0,77 (0,708-0,833)

(a) Antoniou et al. 2008, (b) Panchal et al. 2008, (c) Kang et al. 2006, (d) und (e) Kurian et al. 2008, (f) Unsere Daten

Da die Programme in den internationalen Studien ähnliche Leistungen erbrachten wie in unserer Studie, kann davon ausgegangen werden, dass sie sich auch für die Anwendung in der deutschen Population eignen. Dieselben Probleme, die sich uns stellten, wie zum Beispiel das Fehlen anamnestischer Patientendaten, traten ebenfalls in den anderen Untersuchungen auf. Da für anamnestische Lücken in der Patientengeschichte nicht immer

optimale Lösungen gefunden werden können (s. Beispiel der Familie aus Abb.25), gewinnt eine ausführliche Stammbaumanalyse, die Anlage von Krankenakten und die Befragung von Verwandten im Rahmen einer humangenetischen Beratung an essentiellen Wert für die Erstellung und Ermittlung des individuellen Risikoprofils.

Tab.19: Ergebnisse für die Sensitivität der unterschiedlichen Programme im Vergleich mit internationalen Studien an britischen (a), kanadischen (b), australischen (c), italienischen (d) und deutschen (e) Patientenkollektiven. Die von uns erhobenen Daten sind grau unterlegt.

Programm	Schwellenwert	Sensitivität				
		a	b	c	d	e
BRCAPRO	10%	88%	75%	77%	67%	86%
BOADICEA		90%	70%			87%
MYRIAD		79%	71%	85%	89%	75%

(a) Antoniou et al. 2008, (b) Panchal et al. 2008, (c) Kang et al. 2006, (d) Capalbo et al. 2006, (e) unsere Daten

Die Werte für die Sensitivität der Programme am Schwellenwert von 10% unterscheiden sich in den verschiedenen Studien nicht sonderlich (s. Tab.18).

Mittelt man die Werte, die in den verschiedenen Studien erhalten wurden, so erreicht MYRIAD eine mittlere Sensitivität von 80%, BOADICEA 82% und BRCAPRO 79%. Allerdings wurde für MYRIAD und BRCAPRO eine größere Anzahl von Studien durchgeführt als für BOADICEA.

Tab.20: Spezifität der Programme im Vergleich mit den Ergebnissen internationaler Studien an britischen (a), kanadischen (b), australischen (c), italienischen (d) und deutschen (e) Patientenkollektiven. Die von uns erhobenen Daten sind grau unterlegt.

Programm	Schwellenwert	Spezifität				
		a	b	c	d	e
BRCAPRO	10%	43,1%	62%	54% (49 - 60%)	57% (45-68)	56,9%
BOADICEA		39,5%	65%			50,6%
MYRIAD		46,3%	63%	51% (46 - 57%)	51% (40 - 63%)	64,4%

(a) Antoniou et al. 2008, (b) Panchal et al. 2008, (c) Kang et al. 2006, (d) Capalbo et al. 2006, (e) unsere Daten

Genau wie bei der Sensitivität ergeben sich auch bezüglich der Spezifität keine wesentlichen Unterschiede zwischen den einzelnen Programmen.

4.5. Risikokalkulationsprogramme und große genetische *Rearrangements* (Deletionen und Duplikationen)

Wie bei Veschi et al. (2007) errechnete BRCAPRO auch in unserem Kollektiv für Personen mit großen Deletionen oder Duplikationen ein erhöhtes Risiko. Es wurden drei Deletionen im *BRCA1*- Gen detektiert (Ex1-Ex4del, Ex2del, Ex13dup). Für alle drei Indexpatienten errechnete BRCAPRO ein Risiko > 70% (71%, 97,9% und 100%). BOADICEA ermittelte Risiken > 84% (84,05%, 97,9% und 99,97%), während das MYRIAD- Programm Werte > 39% erreichte (39,2%, 39,2%, 79%).

In unserem Patientenkollektiv wurden in zwei Familien große genomische *Rearrangements* im *BRCA2*- Gen detektiert (Ex22-Ex27del und Ex15-Ex16dup) (s. Tab.15). Nur für die Duplikation bestimmten BRCAPRO und BOADIEA erhöhte Risiken (34,2% und 24,77%). MYRIAD lieferte hier ein falsch negatives Ergebnis (8,7%).

Für eine Deletion im *BRCA2*- Gen wurde von allen drei Programmen ein falsch negatives Ergebnis bestimmt, allerdings handelt es sich in diesem Fall vermutlich um das Auftreten einer de novo Deletion (s. Beispiel aus Abb. 26).

Bei allen großen genomischen Veränderungen, die das *BRCA1*- Gen betreffen, berechnete BRCAPRO ein hohes Risiko. Bei den beiden das *BRCA2*- Gen betreffenden Fällen berechnete BRCAPRO nur einmal ein erhöhtes Risiko, im zweiten Fall ergab BRCAPRO ein falsch negatives Ergebnis. BOADICEA ermittelte ähnlich hohe Risiken für dieselben Patienten wie BRCAPRO. MYRIAD lieferte vergleichsweise schlechte Ergebnisse bezüglich Patienten mit großen genomischen *Rearrangements*.

Ein spezifischer Phänotyp für Personen mit großen genomischen *Rearrangements* ist nicht beschrieben. Jedoch wurden in einer Studie von Engert et al. (2008) an 1.506 deutschen hereditären Brustkrebsfamilien vermehrt große Deletionen und Duplikationen in Hochrisikogruppen mit bestimmter Familienkonstellation nachgewiesen, in der vorrangig prämenopausaler Brustkrebs sowie Eierstockkrebs auftrat. Hier wird die Empfehlung zum Screening auf große genomische *Rearrangements* nur für bestimmte Familienkonstellationen ausgesprochen. Darunter fallen Familien, in denen mindestens drei Personen von Brustkrebs betroffen sind, davon zwei prämenopausal, genau wie Familien mit mindestens zwei prämenopausalen Brustkrebsfällen, Familien mit Brust- und Eierstockkrebs aber auch Ratsuchende mit *early onset* Brustkrebs, also einem vor dem 36. Lebensjahr aufgetretenem Mammakarzinom. Die fünf Familien mit nachgewiesenen großen genomischen *Rearrangements* innerhalb unseres Patientenkollektivs erfüllen alle diese Voraussetzungen, weshalb wir die Empfehlung unterstützen, Patienten mit einer derartigen Familienkonstellation auf große Deletionen und Duplikationen zu untersuchen.

Laut Engert et al. (2008) machen große genomische *Rearrangements* in der deutschen Bevölkerung einen Anteil von 1.6% aller detektierten Mutationen aus. In unserem Kollektiv

beläuft sich diese Zahl auf 10,4%. Jedoch ist unsere Stichprobenzahl bedeutend kleiner als die von Engert et al. untersuchte, weshalb diese Zahl nicht wegweisend sein sollte. Von allen im *BRCA1*- Gen gefundenen Mutationen sind in genannter Studien 9,6% große Deletionen und Duplikationen. In unserem Kollektiv machen sie einen vergleichbaren Anteil von 8,6% aus.

Aufgrund ihrer Seltenheit war lange Zeit nicht klar, ob überhaupt Deletions- bzw. Duplikationsanalysen durchgeführt werden sollten. In unserem Kollektiv gibt es zwar nur eine geringe Anzahl von Patienten mit großen Deletionen oder Duplikationen, trotzdem wird auch hier ein Zusammenhang zwischen hohen Risikowerten einerseits und großen genomischen *Rearrangements* andererseits deutlich. Diese Tatsache unterstreicht den Nutzen der Risikokalkulationsmodelle. Wir empfehlen daher insbesondere für Patienten, für die vorab besonders hohe Risikowerte errechnet wurden, die Durchführung einer Deletionsanalyse.

4.6. Nutzerfreundlichkeit

4.6.1. Programmeigenschaften

In Tabelle 21 sind die Eigenschaften der Programme tabellarisch aufgelistet. Dabei wird aufgetrennt zwischen Nutzerfreundlichkeit, den Ergebnissen, die die Programme liefern, sowie den Kriterien, welche die Programme zur Erstellung des individuellen Risikos berücksichtigen.

Tab.21: Programmeigenschaften von BRCAPRO, BOADICEA, MYRIAD. Auflistung markanter Charakteristika der Programme in Bezug auf Programmart, Nutzerfreundlichkeit, Darstellung und Inhalt der Ergebnispräsentation jedes Programms sowie welche Angaben zum Ratsuchenden bzw. dessen Angehörigen durch das jeweilige Programm erfasst werden.

Programmeigenschaften			
	BRCAPRO	BOADICEA	MYRIAD
Programmart	genetisch	genetisch	empirisch
Nutzerfreundlichkeit			
Eingabedauer	4 Minuten	8 Minuten	30 Sekunden
Eingabeaufwand	+	-	++
Computerzugang	ja	ja	nein
Internetzugang	nein	ja	nein
Verknüpfung mit einem Stammbaumzeichenprogramm	ja	ja	nein
Fehlerkorrektur bei der Dateneingabe	ja	mit Einschränkungen	ja
Ergebnisse			

Mutationsrisiken	ja	ja	ja
Mutationsrisiken separat für <i>BRCA1</i> und <i>BRCA2</i>	ja	ja	nein
Erkrankungswahrscheinlichkeiten Brust- und Eierstockkrebs	ja	ja	nein
Erkrankungswahrscheinlichkeiten für andere <i>BRCA</i> -relevante Tumore	Darmkrebs, Pankreaskarzinom	nein	nein
Bericht für die Patientenakte	ja	ausführlich	nein
Erneuter Datenaufruf möglich/ erweiterbar	ja	ja	nein
Patientenangaben			
Verwandtschaftsgrad	2°	2°	nicht näher definiert
Halbgeschwister	nein	ja	nein
Beidseitiger Brustkrebs	ja	ja	nicht berücksichtigt
<i>BRCA</i> -relevante Tumore	Brustkrebs, Eierstockkrebs, Darmkrebs, Pankreaskarzinom, Prostatakrebs	Brustkrebs, Eierstockkrebs, Pankreaskarzinom, Prostatakrebs	Brustkrebs, Eierstockkrebs
Erfasstes Tumorspektrum	alle	o.g.	o.g.
Mutationsträgerstatus	ja	ja	nein

Für die klinische Anwendung ist die Nutzerfreundlichkeit der Programme ein sehr wichtiges Kriterium. Alle Programme sind kostenfrei im Internet erhältlich.

MYRIAD: http://www.myriadtests.com/index.php?page_id=165

BRCAPRO/CaGeneSoftware: <http://www4.utsouthwestern.edu/breasthealth/cagene/>

BOADICEA: http://www.srl.cam.ac.uk/genepi/boadicea/boadicea_home.html

4.6.2. BRCAPRO und MYRIAD

Wir benutzen die Programme BRCAPRO und MYRIAD im *Interface* der CaGene5-Software. Nach Prozessierung der Daten generiert das Programm einen übersichtlichen Familienstammbaum sowie die Mutations- und Krankheitswahrscheinlichkeiten des Probanden. Dabei errechnet BRCAPRO die Wahrscheinlichkeit, Träger einer Mutation in *BRCA1* oder *BRCA2* zu sein, separat für jedes der beiden Gene. Ebenso wird die Erkrankungswahrscheinlichkeit für Brust-, Eierstock-, Darm- und Pankreaskrebs angegeben. MYRIAD hingegen berechnet ausschließlich die Wahrscheinlichkeit, Träger einer Mutation in

einem der beiden *BRCA*- Gene zu sein. Erkrankungswahrscheinlichkeiten werden dabei nicht angegeben.

Das CaGene5- Programm ist leicht zu bedienen und die Dateneingabe ist einfach strukturiert. Es dauert im Durchschnitt ungefähr vier Minuten, eine Familienanamnese in das Programm zu übertragen und die Berechnungen durchzuführen. Wenn Fehler begangen werden, sind diese leicht korrigierbar. Abschließend wird der Stammbaum im Programm gespeichert und kann jederzeit wieder aufgerufen und bearbeitet werden.

Als Nachteil des CaGene5- / BRCAPRO- Programms ist zu nennen, dass bei der Dateneingabe nicht zwischen Geschwistern und Halbgeschwistern differenziert wird und diese Familienkonstellation in der heutigen Zeit gehäuft zu finden ist. Außerdem werden betroffene Cousins oder Cousinen bzw. Großtanten oder -onkel nicht in die Berechnungen eingeschlossen.

Für MYRIAD allein ist eine unabhängige Version im Internet verfügbar, die man online nutzen kann (http://www.myriadtests.com/index.php?page_id=165). Das Ausfüllen des kurzen Fragebogens dauert im Durchschnitt 30 Sekunden und besticht durch seine Einfachheit. Nach Beendigung der Berechnungen wird ein Wert für die Wahrscheinlichkeit Träger einer Mutation in *BRCA1* oder *BRCA2* zu sein, ausgegeben.

Ebenfalls stellt die Firma Myriad Tabellen bereit, aus denen die Wahrscheinlichkeiten unter Berücksichtigung der familiären Krebsgeschichte direkt abgelesen werden können (s.Tab.2 ((Material und Methoden) *Myriad prevalence tables* nach Frank et al. 2002). Auf diese Weise ist die Abhängigkeit vom Computer aufgehoben. Allerdings wird im MYRIAD- Programm nur die Anzahl der betroffenen Familienmitglieder erfragt und dabei nicht differenziert, ob z.B. eine betroffene Tante aus väterlicher oder mütterlicher Linie stammt. Zusätzlich wird der Verwandtschaftsgrad von betroffenen Familienmitgliedern nicht näher aufgeschlüsselt und nur bedingt eingegrenzt. Es wird kein Unterschied gemacht, ob es sich z.B. im Fall einer Betroffenen um eine Großtante oder Schwester handelt, so lange mindestens ein Betroffener zweiten Grades in den Angaben enthalten ist. Außerdem ist der Risikowert, den dieses Programm ermittelt, nicht individuell auf die Ratsuchende zugeschnitten. Vielmehr werden hier die Personen in unterschiedliche Risikokategorien eingeteilt. Dies kann auch eine Erklärung dafür sein, weshalb MYRIAD eine hohe Spezifität bei gleichzeitig niedriger Sensitivität aufweist.

4.6.3. BOADICEA, *Breast and Ovarian Analysis of Disease Incidence and Carrier Estimation Algorithm*

(Antoniou et al. 2008)

Nach Registrierung auf der BOADICEA- *Website* (http://www.srl.cam.ac.uk/genepi/boadicea/boadicea_intro.html) kann das Programm mit Zugangscodes online betrieben werden. Das impliziert natürlich auch, dass stets ein Internetzugang gewährleistet sein muss. Dieses Programm ist ebenfalls einfach zu bedienen und die Dateneingabe leicht verständlich. Für jedes Familienmitglied bis zum zweiten Verwandtschaftsgrad öffnet sich eine Seite zur Dateneingabe. Auch zwischen Geschwistern und Halbgeschwistern wird differenziert.

Die Dateneingabe in das BOADICEA- Programm benötigt mehr Zeit als die der anderen Programme. Im Durchschnitt werden für die Dateneingabe und -prozessierung acht Minuten benötigt. Dies liegt zum größten Teil an den umfangreichen Fragebögen, welche zur Eingabe vieler Informationen auffordern: Auch wenn zum Beispiel keinerlei Informationen über die Großmutter einer Ratsuchenden vorliegen, ist dennoch ein Name und das Alter (in diesem Fall „*unknown*“) anzugeben. Ist ein Familienmitglied an einem *BRCA*- relevanten Tumorleiden verstorben, so macht dies die Eingabe des Geburtsjahres bzw. der Geburtsperiode dieser Person notwendig, um sie für die Berechnungen einer Geburtskohorte zuordnen zu können. Dies ist oftmals recht mühsam, da die Daten oft nicht in dieser Form auf dem Anamnesebogen vorhanden sind und dann errechnet oder geschätzt werden müssen. Einige Fehler sind nach Ende der Eingabe nicht mehr korrigierbar und machen gegebenenfalls eine erneute Dateneingabe notwendig.

Nach Prozessierung der Daten erhält der Benutzer einen sehr anschaulichen dreiseitigen Bericht, der einen Familienstammbaum mit anamnestischen Daten der Mitglieder, sowie die Mutations- und Erkrankungswahrscheinlichkeiten des Probanden enthält. Die Mutationswahrscheinlichkeit wird auch hier separat für *BRCA1* und *BRCA2*, die Erkrankungswahrscheinlichkeiten sogar in fünf- Jahres- Abständen angegeben.

Abschließend können die Stammbäume auf der eigenen Festplatte in komprimierter Form gespeichert und, falls nötig, erneut auf der webunterstützten BOADICEA- *Homepage* hochgeladen werden, um sie verändern oder erneut drucken zu können.

Gerade da in der statistischen Analyse der Programme zwischen den beiden bestabschneidenden Programmen BRCAPRO und BOADICEA keine größeren Unterschiede deutlich wurden, kommt der Beurteilung der Nutzerfreundlichkeit eine große Bedeutung zu. Sie entscheidet letztendlich, ob sich ein Programm in der Sprechstunde durchsetzen kann oder ob es sich aufgrund von Umständlichkeit nicht gut in den Alltag integrieren lässt. Wenn alle Programme ähnlich gute Ergebnisse liefern, so wird man sich für das Programm entscheiden, das die einfachste Handhabe verspricht.

Die Tabellen oder das internetgestützte Programm, das MYRIAD bereitstellt, bedeuten kaum Aufwand für den Berater. 30 Sekunden oder weniger genügen, um das Risiko des Ratsuchenden zu bestimmen. Allerdings ist MYRIAD das Programm mit den schlechtesten Ergebnissen bezogen auf Sensitivität oder AUC. Da sich MYRIAD anhand von stark vereinfachten Kriterien orientiert, ist das Risiko für die Person nicht individualisiert. Vielmehr werden die Patienten den 42 definierten Risikogruppen zugeteilt.

Das BOADICEA- Programm liefert sehr gute Ergebnisse, jedoch ist das Vorhandensein eines Computers und einer Internetverbindung immer vorausgesetzt. In unseren Untersuchungen fielen die zum Teil fehlenden Möglichkeiten zur Fehlerkorrektur, die zu detaillierte Informationsabfrage (Geburtsjahr von Großeltern, etc.), sowie die Umständlichkeit- da immer eine Internetverbindung bestehen muss, sei es zur Erstellung eines neuen Risikoprofils oder für die Bearbeitung eines bereits vorhandenen Patientenstammbaums- negativ auf. Eine Eigenschaft des BOADICEA- Programms, welche die Nutzerfreundlichkeit bedeutend erhöht, ist der anschauliche dreiseitige Bewertungsbogen, der abschließend ausgedruckt und in der Patientenakte abheftet werden kann. Er enthält alle Informationen, die über den Patienten in das Programm eingegeben werden konnten, einen Familienstammbaum sowie Mutations- und Erkrankungswahrscheinlichkeiten in fünf Jahres Abständen.

Den besten Kompromiss insgesamt liefert jedoch das BRCAPRO- Programm. Es schneidet in den meisten Untersuchungen am besten ab und ist gleichzeitig relativ einfach und schnell zu bedienen. Auch hier kann man sowohl den Stammbaum als auch einen einseitigen Informationsbogen ausdrucken, der die Mutationsträgerwahrscheinlichkeiten sowie die Erkrankungswahrscheinlichkeiten enthält.

4.7. Vorgehen bei unauffälligem molekulargenetischem Untersuchungsbefund

Von einer molekulargenetischen Untersuchung profitieren sowohl die Ratsuchende als auch deren Angehörige. Aus der Detektion einer Mutation resultieren viele Möglichkeiten für das weitere Vorgehen zur Prävention der Krebsentstehung oder für den Umgang mit bereits vorhandenen Tumoren. Wird die krankheitsverursachende Mutation bei einem gesunden Familienmitglied identifiziert, erhöht sich dessen Risiko für die Entstehung eines Tumors des *BRCA*- Tumorspektrums stark und es können präventive Entscheidungen getroffen werden, um dem entgegen zu wirken. Gleichzeitig kann die Ratsuchende bei Ausschluss der Mutation psychisch erheblich entlastet werden.

Ist ein Untersuchungsbefund unauffällig, so kann nicht ausgeschlossen werden, dass es sich im Falle der Ratsuchenden um einen sporadischen Fall von Brustkrebs handelt, oder ob die ursächliche Mutation einer hereditären Brust- und Eierstockkrebserkrankung in einem nicht bekannten und demnach noch nicht untersuchten Genlocus zu finden ist (Prinzip der

genetischen Heterogenität).

Aus diesem Grund wird mit Ratsuchenden mit unauffälligem Untersuchungsbefund, aber hohem Risiko bei der Risikokalkulation wie folgt vorgegangen (S3- Leitlinien): Personen mit unauffälligem Befund in der molekulargenetischen Untersuchung, aber einem errechneten Risiko von $\geq 20\%$, Träger einer Mutation zu sein, oder Personen mit einem lebenslangen Erkrankungsrisiko von $\geq 30\%$ wird angeboten, an einem intensivierten Früherkennungsprogramm teilzunehmen. Dieses umfasst neben der klinischen Tastuntersuchung, Ultraschall der Brüste und transvaginalen Ultraschall des Unterleibs die Mammographie und die MRT- Untersuchung (s. Tab.22).

Tab.22: Das intensivierte Früherkennungsprogramm für gesunde Frauen mit einer nachgewiesenen Mutation in *BRCA1* oder *BRCA2*, für Frauen mit einem Risiko $\geq 20\%$, Trägerin einer Mutation in *BRCA1* bzw. *BRCA2* zu sein sowie für Frauen mit einem lebenslangen Erkrankungsrisiko von $\geq 30\%$. (Deutsches Konsortium für Familiären Brust- und Eierstockkrebs).

Strukturiertes Früherkennungsprogramm
einmal im Monat Selbstabtastung der Brust nach ärztlicher Einweisung, möglichst in den ersten zwei Wochen nach Einsetzen der Regelblutung)
alle 6 Monate ärztliche Tastuntersuchung der Brust ¹
alle 6 Monate Ultraschalluntersuchung der Brust (7,5- 13 MHz) ¹
alle 6 Monate gynäkologische Untersuchung einschließlich Abstrich des Gebärmutterhalses und Ultraschall des Unterleibs
alle 12- 24 Monate Mammographie der Brust ²
alle 12 Monate Kernspintomographie der Brust (MRT) ^{2- 3}
Zeitraum:
¹ ab dem 25. Lebensjahr oder 5 Jahre vor dem frühesten Erkrankungsalter in der Familie lebenslang
² ab dem 30. Lebensjahr lebenslang
³ die Kernspintomographie endet in der Regel mit dem 55. Lebensjahr oder bei der Involution des Drüsenparenchyms

Aus Stufe 3- Leitlinien Brustkrebs- Früherkennung in Deutschland (Schmutzler et al. 2008, S. 58- 59)

5. Zusammenfassung

Für unsere Studie zur Risikokalkulation für Mutationen in den Genen *BRCA1* und *BRCA2* untersuchten wir die Aussagekraft verschiedener Programme zur Risikostratifizierung an insgesamt 183 Familien bzw. 257 Patienten mit Brust- und/ oder Eierstockkrebs und abgeschlossener molekulargenetischer Diagnostik. Mittels statistischer Methoden überprüften wir die Aussagekraft der Programme sowohl am Gesamtkollektiv als auch an zwei Subgruppen mit unterschiedlichem Risikoprofil, einer Hochrisikogruppe und einer Niedrigrisikogruppe.

Insgesamt wurden drei Programme evaluiert, namentlich BRCAPRO, BOADICEA und das MYRIAD- Programm, welche sich jeweils durch folgende Qualitäten auszeichneten:

Das BOADICEA- Programm erzielte konstant gute Ergebnisse in allen statistischen Tests und lieferte das beste Ergebnis für die Sensitivität an einem Schwellenwert von 10%. Hierbei handelt es sich um ein Programm, welches sehr detailliert viele Informationen der Familien- und Eigenanamnese des Ratsuchenden berücksichtigt und eine sehr gute Ergebnispräsentation in Form eines dreiseitigen Ergebnisbogens bietet. Allerdings ist mit der detaillierten Informationsabfrage ein relativ hoher Eingabeaufwand verbunden. Das online betriebene Programm bietet weiterhin die Möglichkeit ständiger *Updates*, jedoch muss zum Betreiben stets ein Internetzugang gewährleistet sein.

Das MYRIAD- Programm zeichnet sich besonders durch seine einfache Handhabung aus. Der Eingabeaufwand ist minimal, Risikoschätzungen können anhand von fünf Fragen sogar tabellarisch abgelesen werden und heben so die Abhängigkeit von einem Computer auf. Es kann jedoch auch computergestützt unter dem Interface der CaGene5- Software oder online betrieben werden. Allerdings schneidet das MYRIAD- Programm in der überwiegenden Zahl der statistischen Untersuchungen im Vergleich zu den anderen Programmen schlechter ab. Lediglich in der Spezifität bei einem Schwellenwert von 10% liefert es das beste Ergebnis unter den drei Programmen. Dies ist auch auf die stark komprimierte Familienanamnese zurückzuführen, die von dem Programm berücksichtigt wird.

Das BRCAPRO- Programm erzielte hinsichtlich des Youden Index bei einem Schwellenwert von 10% wie auch für die Fläche unter der ROC- Kurve (AUC) das jeweils beste Ergebnis und zeigte ein konstant gutes Abschneiden in den übrigen statistischen Tests. Bezogen auf die Nutzerfreundlichkeit liefert es den besten Kompromiss unter den drei Programmen. In dem computerabhängigen Programm CaGene5 werden viele wichtige Informationen über Ratsuchende und deren Angehörige berücksichtigt, der Eingabeaufwand ist jedoch deutlich geringer als im BOADICEA- Programm. Ähnlich wie das BOADICEA- Programm erstellt es

einen gut strukturierten Ergebnisbogen für die Patientenakte.

Des Weiteren evaluierten wir das Abschneiden der Programme an Subgruppen mit unterschiedlichem Risikoprofil (Hochrisiko- und Niedrigrisikogruppe), um zu evaluieren, welches Programm sich am besten für die Risikokalkulation für Betroffene und Ratsuchende mit betroffenen erstgradigen Verwandten eignet, und welches Programm sich am besten für die Risikokalkulation nicht betroffener Ratsuchender mit unauffälliger Familienanamnese eignet. Auch hierfür wurden ROC- Kurven ermittelt. Dabei konnte gezeigt werden, dass die Programme sich nicht zum Massenscreening eignen, sondern sich einzig für die Risikokalkulation in bereits vorselektierten Kollektiven, wie Ratsuchenden in der Brustkrebssprechstunde, eignen.

Im Vergleich mit Studien an internationalen Patientenkollektiven lieferten unsere Untersuchungen vergleichbare Ergebnisse, was darauf schließen lässt, dass sich die Programme zur Anwendung auf die deutsche Population eignen.

Schließlich diente die Studie der Überprüfung, welches der Programme sich am besten zur Integration in unsere Brustkrebssprechstunde eignet. Dabei zeigte sich, dass insbesondere das BRCAPRO- Programm, welches unter dem Interface der CaGene5- Software betrieben werden kann, den besten Kompromiss in Nutzerfreundlichkeit und Ergebnisqualität aufweist.

Als Konsequenz aus den hier vorgelegten Untersuchungen entschieden wir uns dazu das CaGene5- Programm, insbesondere aufgrund des guten Abschneidens des BRCAPRO- Programms, in unsere Sprechstunde zu integrieren. Hierfür sprechen zum einen die guten Ergebnisse in der statistischen Analyse und letztendlich auch seine große Nutzerfreundlichkeit. Es verspricht eine leicht verständliche Handhabung und exakte Ergebnisse. Im Falle von Unsicherheiten ist im CaGene5- Programm darüber hinaus das MYRIAD- Programm enthalten, so dass eine doppelte Absicherung vorliegt.

Bei der Entscheidung für oder gegen ein Programm darf allerdings nicht außer Acht gelassen werden, dass diese Programme zwar eine gute Stütze in der Entscheidungsfindung für oder gegen eine molekulargenetische Untersuchung darstellen, allerdings keine 100%ige Trefferquote erbringen können. Gerade vor dem Hintergrund von Neumutationen sollten Auffälligkeiten in der Familienanamnese stets Anlass dazu geben, die Risikokalkulation des Programms zu hinterfragen und sich gegebenenfalls trotz niedrig vorhergesagtem Risiko für eine molekulargenetische Untersuchung zu entscheiden.

6. Literaturverzeichnis

Alter BP, Rosenberg PS, Brody LC (2007): Clinical and molecular features associated with biallelic mutations in FANCD1/BRCA2. *J Med Genet.* 44(1), 1-9

Antoniou A, Pharoah PD, Narod S, Risch HA, Eyfjord JE, Hopper JL, Loman N, Olsson H, Johannsson O, Borg A (2003): Average risk of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 and BRCA2 mutations detected in case series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies. *Am J Hum Genet* 72, 1117- 1130

Antoniou AC, Hardy R, Walker L, Evans DG, Shenton A, Eeles R, Shanley S, Pichert G, Izatt L, Rose S (2008): Predicting the likelihood of carrying a BRCA1 or BRCA2 mutation: validation of BOADICEA, BRCAPRO, IBIS, Myriad and the Manchester scoring system using data from UK genetics clinics. *J Med Genet* 45(7), 425-431

Backe J (2002): Brustkrebs beim Mann. *Dtsch Arztebl* 99 Heft 17: A 1168–1172

Backe J, Hofferbert S, Skawran B, Dörk T, Stuhmann M, Karstens JH, Untch M, Meindl A, Burgemeister R, Chang-Claude J, Weber BH (1999): Frequency of BRCA1 mutation 5382insC in German breast cancer patients. *Gynecol Oncol* 72(3), 402-406

Berry DA, Parmigiani G, Sanchez J, Schildkraut J, Winer E (1997): Probability of carrying a mutation of breast-ovarian cancer gene BRCA1 based on family history. *J Natl Cancer Inst* 89(3), 227-238

Capalbo C, Ricevuto E, Vestri A, Ristori E, Sidoni T, Buffone O, Adamo B, Cortesi E, Marchetti P, Scambia G (2006): BRCA1 and BRCA2 genetic testing in Italian breast and/or ovarian cancer families: mutation spectrum and prevalence and analysis of mutation prediction models. *Ann Oncol* 17(7), 34-40

Carroll JC, Cremin C, Allanson J, Blaine SM, Dorman H, Gibbons CA, Grimshaw J, Honeywell C, Meschino WS, Permaul J, Wilson BJ (2008): Hereditary breast and ovarian cancers. *Can Fam Physician* 54(12), 1691-1692

Clopper CJ, Pearson ES (1934): The use of confidence or fiducial limits illustrated in the case of the binomial. *Biometrika* 26(4); 404-413

Diez O, Gutiérrez-Enríquez S, Mediano C, Masas M, Saura C, Gadea N, Balmaña J (2010): A novel de novo BRCA2 mutation of paternal origin identified in a Spanish woman with early onset bilateral breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 121(1), 221-225

Eng C., Pagon RA, Bird TC, Dolan CR, Stephens K (2001 Nov 29 [updated 2009 May 05]): PTEN Hamartoma Tumor Syndrome (PHTS); in: *GeneReviews* [Internet] hrsg. von Pagon RA, Bird TC, Dolan CR, Stephens K; Seattle (WA): University of Washington; Seattle 1993

Engert S, Wappenschmidt B, Betz B, Kast K, Kutsche M, Hellebrand H, Goecke TO, Kiechle M, Niederacher D, Schmutzler RK, Meindl A (2008): MLPA screening in the BRCA1 gene from 1,506 German hereditary breast cancer cases: novel deletions, frequent involvement of exon 17, and occurrence in single early-onset cases. *Hum Mutat* 29(7), 948-958

Fischer C, Bickeböller H (2007): Risikokalkulationen bei erblichen Krebserkrankungen. *medgen* 19, 245–249

Frank TS, Deffenbaugh AM, Reid JE, Hulick M, Ward BE, Lingenfelter B, Gumper KL, Scholl T, Tavtigian SV, Pruss DR (2002): Clinical Characteristics of Individuals With Germline Mutations in BRCA1 and BRCA2: Analysis of 10,000 Individuals. *J Clin Oncol* 20, 1480-1490

Goldberg JI, Borgen PI (2006): Breast cancer susceptibility testing: past, present and future. *Expert Rev Anticancer Ther* 6(8), 1205-1214

Górski B, Byrski T, Huzarski T, Jakubowska A, Menkiszak J, Gronwald J, Pluzańska A, Bebenek M, Fischer-Maliszewska L, Grzybowska E, Narod SA, Lubiński J (2000): Founder mutations in the BRCA1 gene in Polish families with breast-ovarian cancer. *Am J Hum Genet* 66(6), 1963-1968

Haag C, Enriquez Schäfer R, Schulze E, Molekulargenetisches Labor der endokrinologisch-humangenetischen Gemeinschaftspraxis, Heidelberg, Beckman Coulter GmbH, Krefeld (2005): Kapillarelektrophoretische Identifizierung von Gendelektionen. *BIOspektrum (Heidelb.)* 11, 103-105

Hamann U, Scott R, Jakubowska A, Rashid U (2004): Molekulargenetik des Mammakarzinoms (B055). DKFZ Wissenschaftlicher Ergebnisbericht 2002- 2003, 127-128

Jones AC, Austin J, Hansen N, Hoogendoorn B, Oefner PJ, Cheadle JP, O'Donovan MC (1999): Optimal temperature selection for mutation detection by denaturing HPLC and comparison to single-stranded conformation polymorphism and heteroduplex analysis. Clin Chem 45,1133-1140

Kang HH, Williams R, Leary J; kConFab Investigators, Ringland C, Kirk J, Ward R (2006): Evaluation of models to predict BRCA germline mutations. Br J Cancer 95(7), 914-920

Kohlmann W, Gruber SB (2004 Feb 05 [updated 2006 Nov 29]): Hereditary Non-Polyposis Colon Cancer; in: GeneReviews [Internet] hrsg. von Pagon RA, Bird TC, Dolan CR, Stephens K; Seattle (WA): University of Washington; Seattle 1993

Korde LA, Zujewski JA, Kamin L, Giordano S, Domchek S, Anderson WF, Bartlett JM, Gelmon K, Nahleh Z, Bergh J (2010): Multidisciplinary meeting on male breast cancer: summary and research recommendations. J Clin Oncol 28(12), 2114-2122

Kurian AW, Gong GD, Chun NM, Mills MA, Staton AD, Kingham KE, Crawford BB, Lee R, Chan S, Donlon SS, Ridge Y, Panabaker K, West DW, Whittemore AS, Ford JM (2008): Performance of BRCA1/2 mutation prediction models in Asian Americans. J Clin Oncol 26(29), 4752-4758

Kuschel B, Pfeifer K, Anthuber C, Kiechle M: Hereditäres Ovarialkarzinom; in: MANUAL Maligne Ovarialtumoren hrsg v. Schmalfeldt B, 8. Auflage; W. Zuckschwerdt Verlag München, Wien, New York 2007, 26- 35

Lim W, Hearle N, Shah B, Murday V, Hodgson SV, Lucassen A, Eccles D, Talbot I, Neale K, Lim AG (2003): Further observations on LKB1/STK11 status and cancer risk in Peutz-Jeghers syndrome. Br J Cancer 89(2), 308-313

Majdak-Paredes EJ, Fatah F (2009): Hereditary breast cancer syndromes and clinical implications. J Plast Reconstr Aesthet Surg 62(2) 181-189

Malone KE, Daling JR, Thompson JD, O'Brien CA, Francisco LV, Ostrander EA (1998): BRCA1 mutations and breast cancer in the general population: analyses in women before

age 35 years and in women before age 45 years with first-degree family history. *JAMA* 279(12), 922-929

Meindl A, Hellebrand H, Wiek C, Erven V, Wappenschmidt B, Niederacher D, Freund M, Lichtner P, Hartmann L, Schaal H (2010): Germline mutations in breast and ovarian cancer pedigrees establish RAD51C as a human cancer susceptibility gene. *Nat Genet* 42(5), 410-414

Metcalfe K, Lynch HT, Ghadirian P, Tung N, Olivetto I, Warner E, Olopade OI, Eisen A, Weber B, McLennan J (2004): Contralateral breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *J Clin Oncol* 22(12), 2328-2335

Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, Liu Q, Cochran C, Bennett LM, Ding W, Bell R, Rosenthal J, and 33 others (1994): A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science* 266, 66-71

Morgan JE, Carr IM, Sheridan E, Chu CE, Hayward B, Camm N, Lindsay HA, Mattocks CJ, Markham AF, Bonthron DT (2010): Genetic diagnosis of familial breast cancer using clonal sequencing. *Hum Mutat* 31(4), 484-491.

Neuhausen SL, Godwin AK, Gershoni-Baruch R, Schubert E, Garber J, Stoppa-Lyonnet D, Olah E, Csokay B, Serova O, Lalloo F (1998): Haplotype and phenotype analysis of nine recurrent BRCA2 mutations in 111 families: results of an international study. *Am J Hum Genet* 62(6), 1381-1388

O'Donovan MC, Oefner PJ, Roberts SC, Austin J, Hoogendoorn B, Guy C, Speight G, Upadhyaya M, Sommer SS, McGuffin P (1998): Blind analysis of denaturing high-performance liquid chromatography as a tool for mutation detection. *Genomics*. 52(1), 44-49

Ortmann O, Albert US, Schulz KD: Risikofaktoren; in: Stufe-3-Leitlinie Brustkrebs-Früherkennung in Deutschland 1. Aktualisierung 2008 hrsg v. Albert U S für die Mitglieder der Planungsgruppe und Leiter der Arbeitsgruppen Konzertierte Aktion Brustkrebs- Früherkennung in Deutschland, ed.1; Zuckschwerdt Verlag, München 2008, 64-68

Panchal SM, Ennis M, Canon S, Bordeleau LJ (2008): Selecting a BRCA risk assessment model for use in a familial cancer clinic. *BMC Med Genet* 9, 116

Petrucci N, Daly MB, Culver JOB, Feldman GL (1998 Sep 04 [updated 2007 Jun 19]): BRCA1 and BRCA2 Hereditary Breast/Ovarian Cancer; in: GeneReviews [Internet] hrsg. von Pagon RA, Bird TC, Dolan CR, Stephens K; Seattle (WA): University of Washington; Seattle 1993

Rebbeck TR, Lynch HT, Neuhausen SL, Narod SA, Van't Veer L, Garber JE, Evans G, Isaacs C, Daly MB, Matloff E (2002): Prophylactic oophorectomy in carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations. *N Engl J Med* 346(21), 1616-1622

Richter K, Abel U, Klar R, Köbberling J, Trampisch H J, Windeler J (1988): Die Grundlagen der Validierung einfacher, diagnostischer Tests. *Klin. Wschr.* 66, 655-661

Risch HA, McLaughlin JR, Cole DE, Rosen B, Bradley L, Kwan E, Jack E, Vesprini DJ, Kuperstein G, Abrahamson JL (2001): Prevalence and Penetrance of Germline BRCA1 and BRCA2 Mutations in a Population Series of 649 Women with Ovarian Cancer. *Am J Hum Genet* 68, 700–710

RKI (Robert Koch-Institut Hrsg.): Verbreitung von Krebserkrankungen in Deutschland. Entwicklung der Prävalenzen zwischen 1990 und 2010. Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes. RKI, Berlin 2010, 67- 82

Roa BB, Boyd AA, Volcik K, Richards CS (1996): Ashkenazi Jewish population frequencies for common mutations in BRCA1 and BRCA2. *Nat Genet* 14(2), 185-187

Rudd MF, Sellick GS, Webb EL, Catovsky D, Houlston RS (2006): Variants in the ATM-BRCA2-CHEK2 axis predispose to chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 108(2), 638- 644

Schlehe B, Schmutzler R (2008): Hereditary breast cancer. *Chirurg* 79(11), 1047-1054

Schmutzler R, Schlegelberger B, Meindl A, Schreer I, Heywang- Köbrunner S, Engel C, Kreipe H: Hereditäre Brustkrebserkrankung in: Stufe-3-Leitlinie Brustkrebs-Früherkennung in Deutschland 1. Aktualisierung 2008 hrsg v. Albert U S für die Mitglieder der Planungsgruppe und Leiter der Arbeitsgruppen Konzertierte Aktion Brustkrebs- Früherkennung in Deutschland, ed.1; Zuckschwerdt Verlag, München 2008, 56- 61

- Statistisches Bundesamt Deutschland. Sterbefälle insgesamt 2009 nach den 10 häufigsten Todesursachen der International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (ICD-10) [Zugriff: 19.12.2010]. URL: <http://www.destatis.de/jetspeed/portal/cms/Sites/destatis/Internet/DE/Content/Statistiken/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/Content75/SterbefaelleInsgesamt,templateId=renderPrint.ppt>
- Thompson D, Easton D; Breast Cancer Linkage Consortium (2001): Variation in cancer risks, by mutation position, in BRCA2 mutation carriers. *Am J Hum Genet* 68(2), 410-419
- Thompson D, Easton DF, Breast Cancer Linkage Consortium (2002): Cancer Incidence in BRCA1 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 94, 1358-1365
- Veschi S, Aceto G, Scioletti AP, Gatta V, Palka G, Cama A, Mariani-Costantini R, Battista P, Calò V, Barbera F, Bazan V, Russo A, Stuppia L (2007): High prevalence of BRCA1 deletions in BRCAPRO-positive patients with high carrier probability. *Ann Oncol* 18, 86-92
- Wooster R, Bignell G, Lancaster J, Swift S, Seal S, Mangion J, Collins N, Gregory S, Gumbs C, Micklem G (1995): Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature* 378: 789-792

7. Anhang

7.1. Stammbäume der Familien mit nachgewiesener Mutation

7.1.1. Stammbäume der Familien mit nachgewiesener Mutation in *BRCA1*

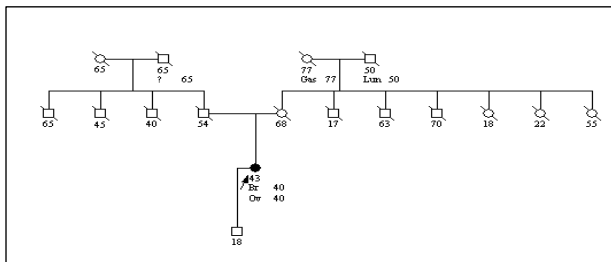


Abb.1 : Stammbaum der Familie 32313

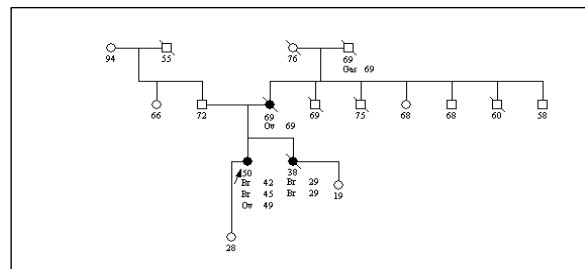


Abb.2 : Stammbaum der Familie 32310

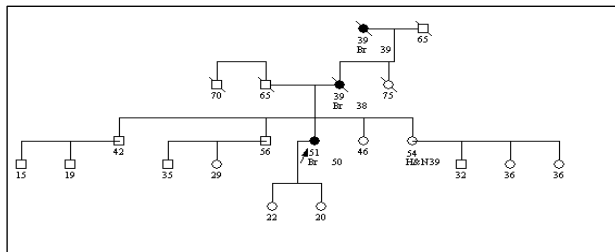


Abb.3 : Stammbaum der Familie 32301

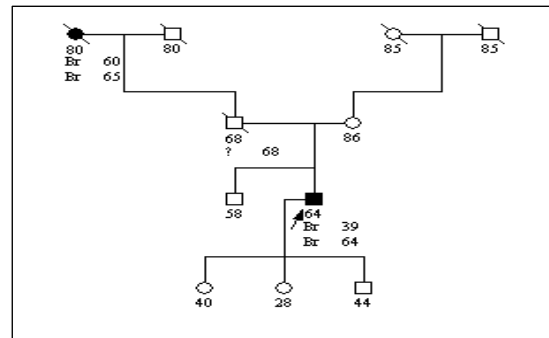


Abb.4 : Stammbaum der Familie 30095

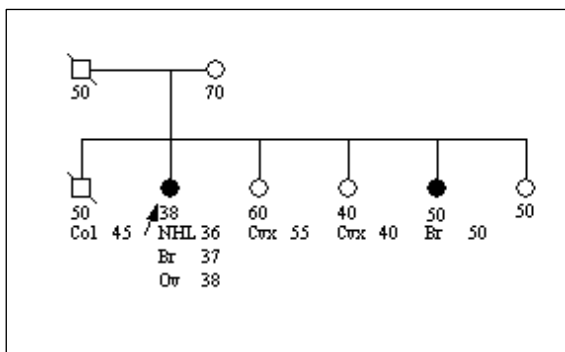


Abb.5 : Stammbaum der Familie 30084

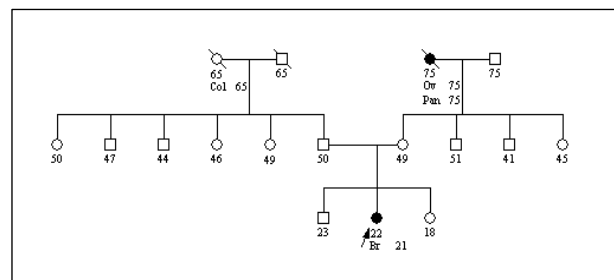


Abb.6 : Stammbaum der Familie 30082

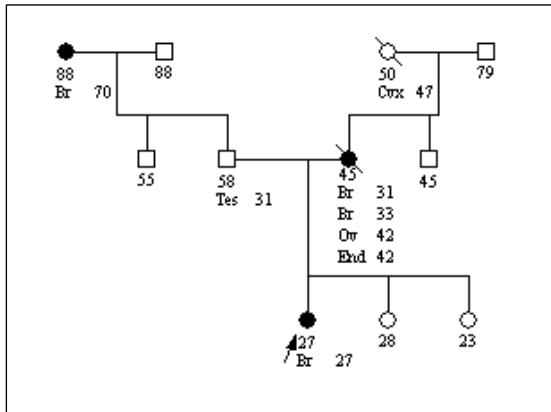


Abb.7 : Stammbaum der Familie 30081

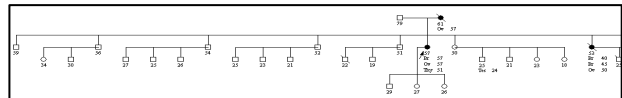


Abb.8 : Stammbaum der Familie 30073

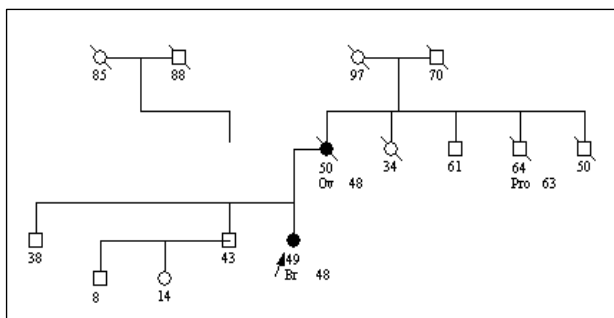


Abb.9 : Stammbaum der Familie 30064

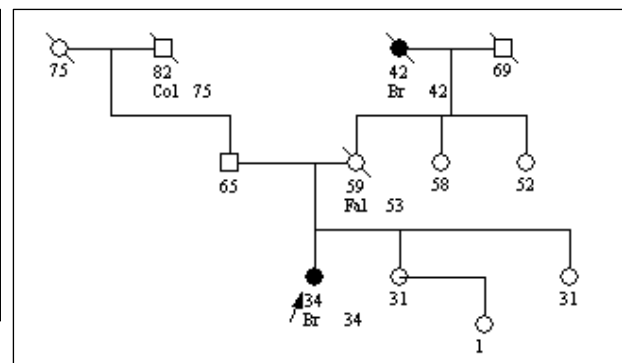


Abb.10 : Stammbaum der Familie 30035

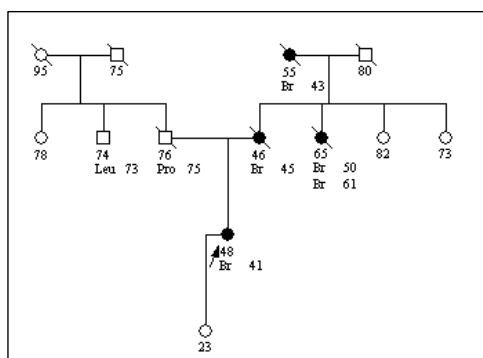


Abb.11 : Stammbaum der Familie 30024

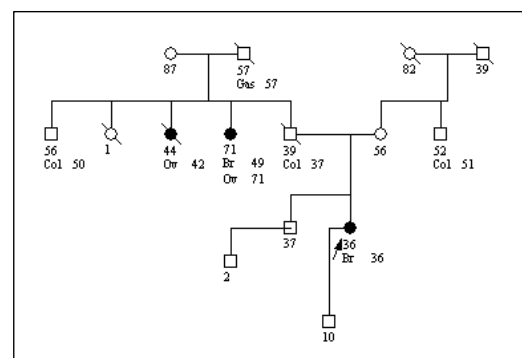


Abb.12 : Stammbaum der Familie 26990

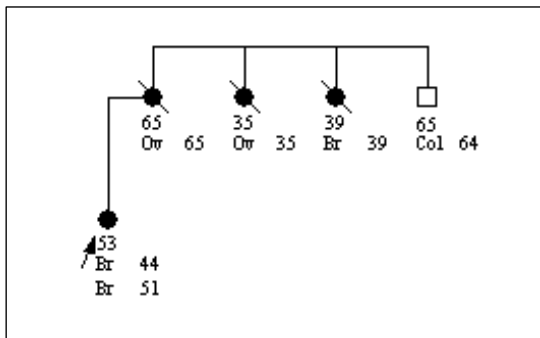


Abb.13 : Stammbaum der Familie 26988

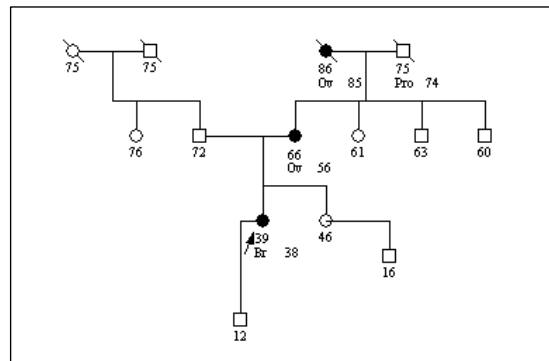


Abb.14 : Stammbaum der Familie 26987

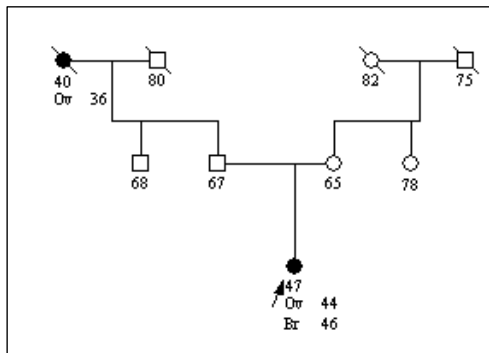


Abb.15 : Stammbaum der Familie 26986

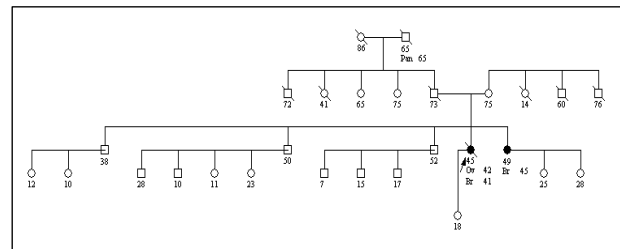


Abb.16 : Stammbaum der Familie 26974

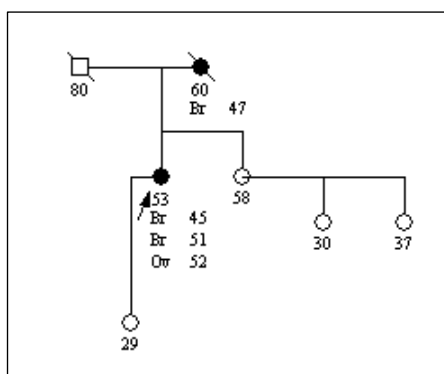


Abb.17 : Stammbaum der Familie 26971

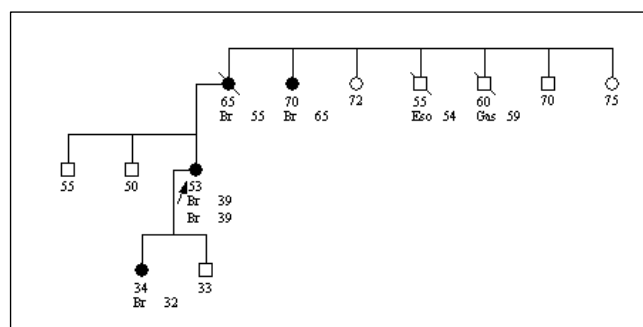


Abb.18 : Stammbaum der Familie 26946

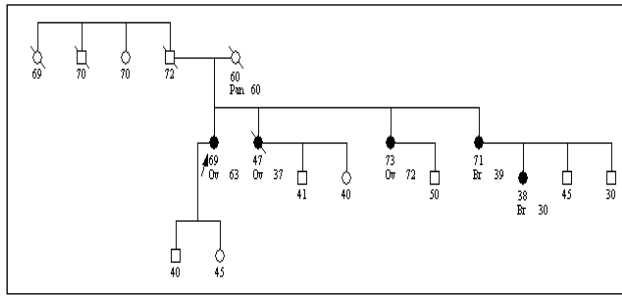


Abb.19 : Stammbaum der Familie 26941

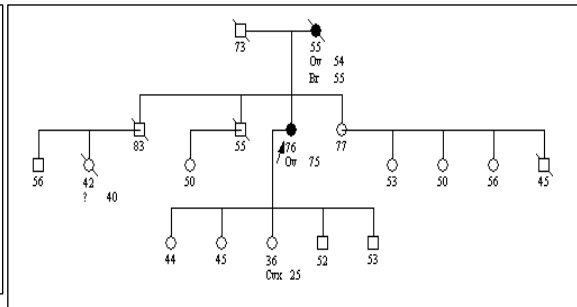


Abb.20 : Stammbaum der Familie 26935

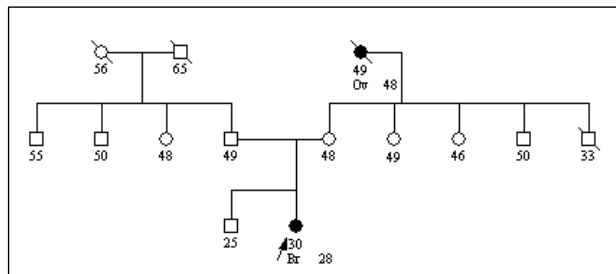


Abb.21 : Stammbaum der Familie 26929

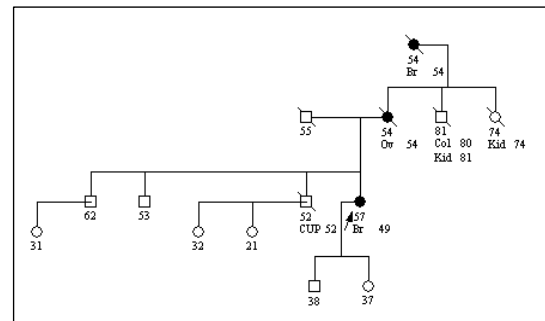


Abb.22 : Stammbaum der Familie 26917

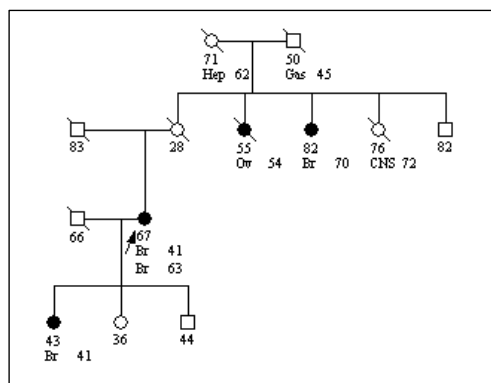


Abb.23 : Stammbaum der Familie 26900

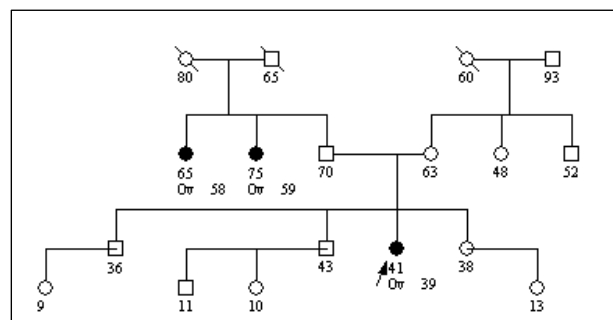


Abb.24 : Stammbaum der Familie 22130

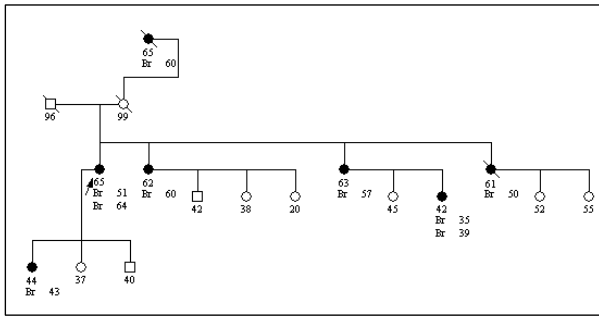


Abb.25 : Stammbaum der Familie 22128

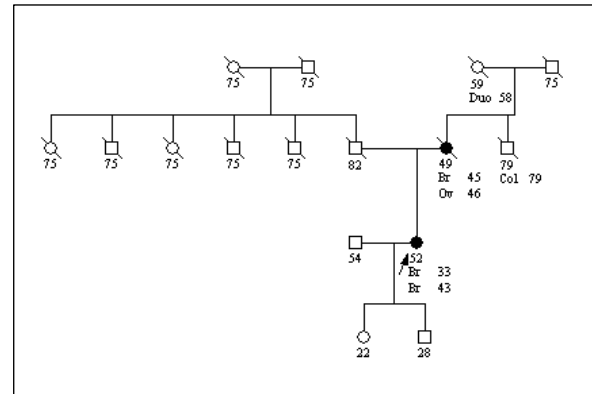


Abb.26 : Stammbaum der Familie 11198

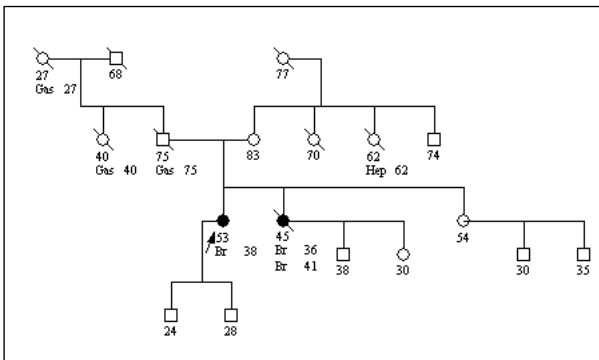


Abb.27 : Stammbaum der Familie 11187

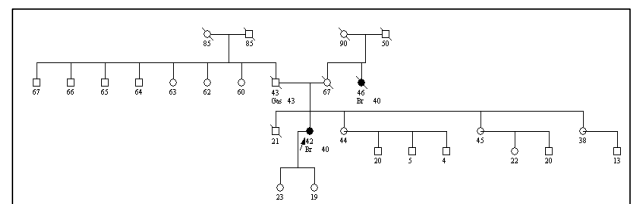


Abb.28 : Stammbaum der Familie 11176

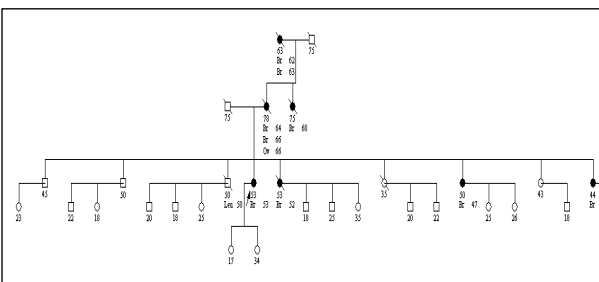


Abb.29 : Stammbaum der Familie 11168

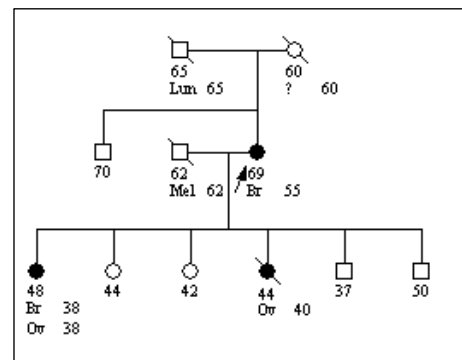


Abb.30 : Stammbaum der Familie 11162

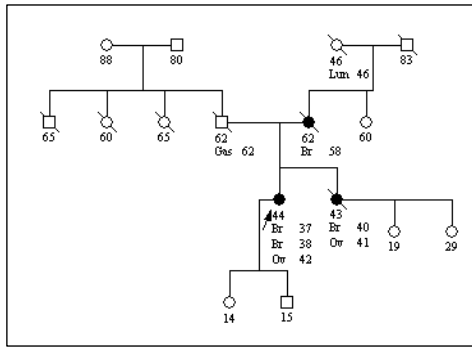


Abb.31 : Stammbaum der Familie 11147

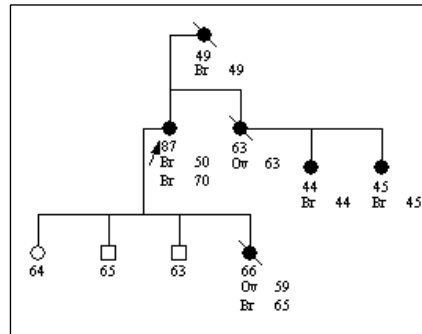


Abb.32 : Stammbaum der Familie 11145

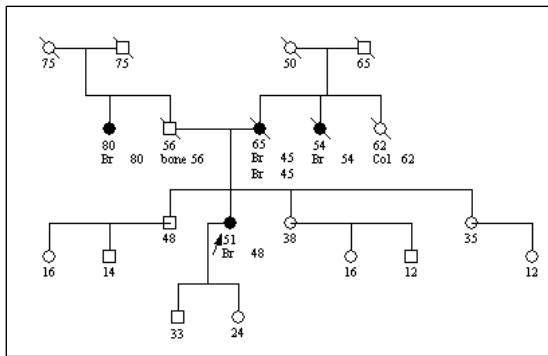


Abb.33 : Stammbaum der Familie 11128

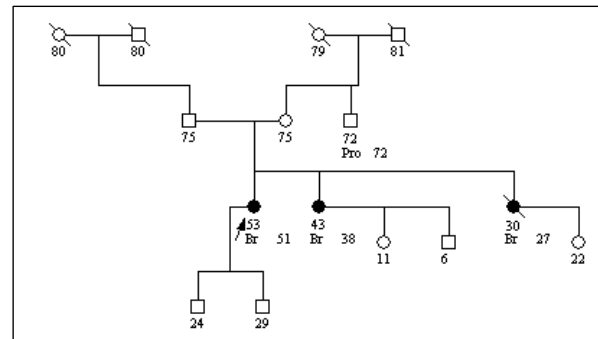


Abb.34 : Stammbaum der Familie 11122

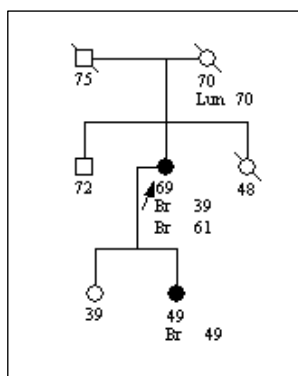


Abb.35 : Stammbaum der Familie 11112

7.1.2. Stammbäume der Familien mit nachgewiesener Mutation in *BRCA2*

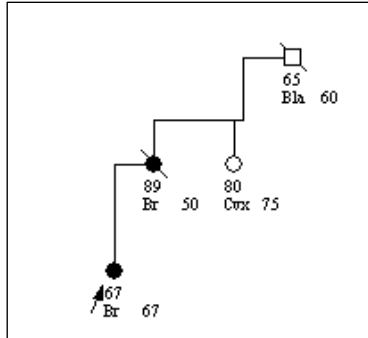


Abb.36 : Stammbaum der Familie 32319

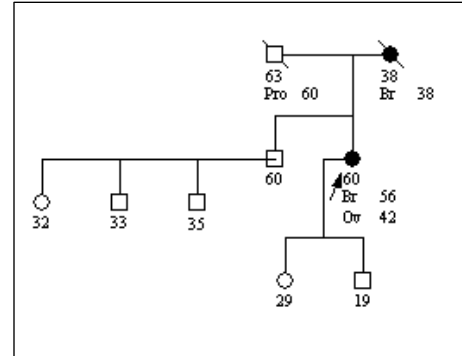


Abb.37: Stammbaum der Familie 30068

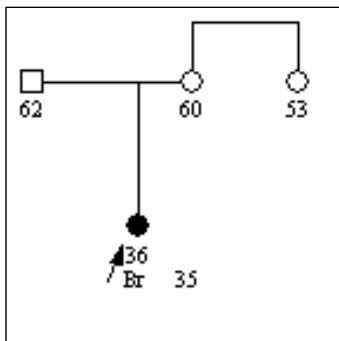


Abb.38 : Stammbaum der Familie 30054

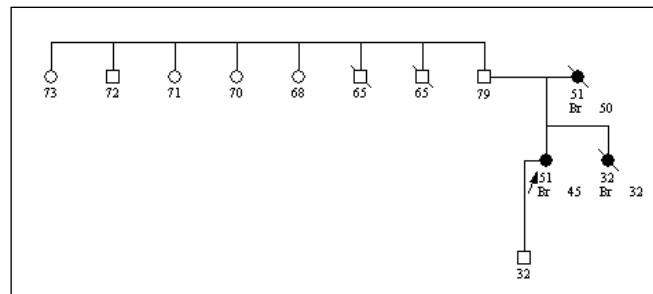


Abb. 39 : Stammbaum der Familie 30005

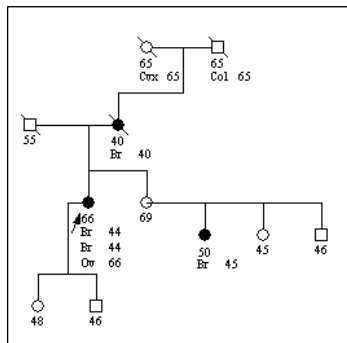


Abb.40 : Stammbaum der Familie 30003

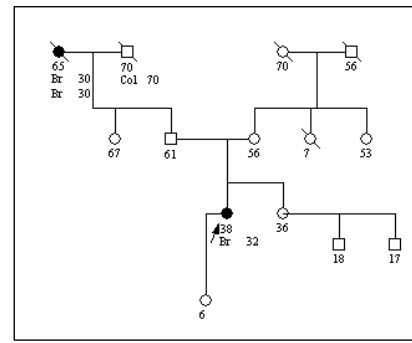


Abb.41 : Stammbaum der Familie: 26970

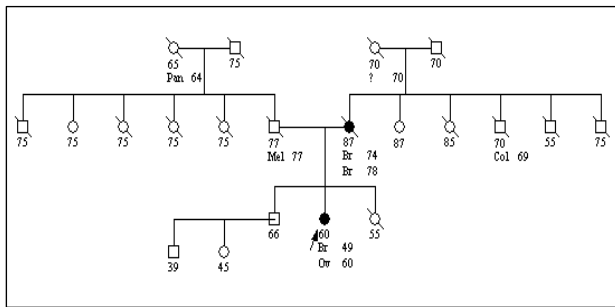


Abb.42 : Stammbaum der Familie: 26956

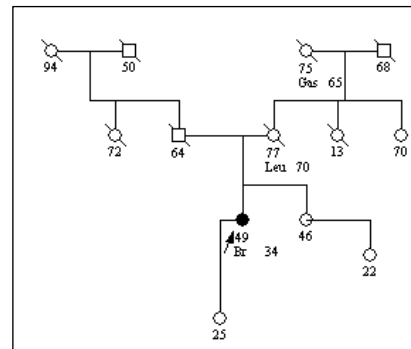


Abb.43 : Stammbaum der Familie 26918

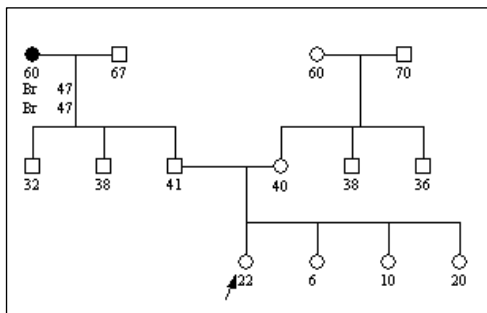


Abb.44: Stammbaum der Familie 20342

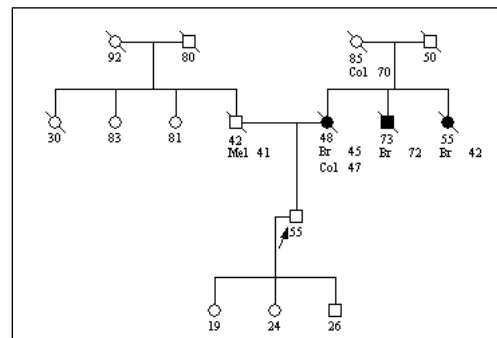


Abb.45 : Stammbaum der Familie 11209

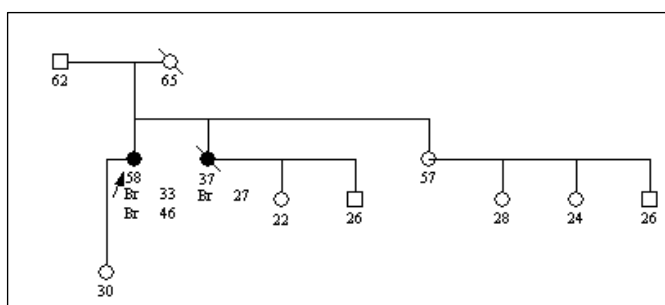


Abb.46 : Stammbaum der Familie 11205

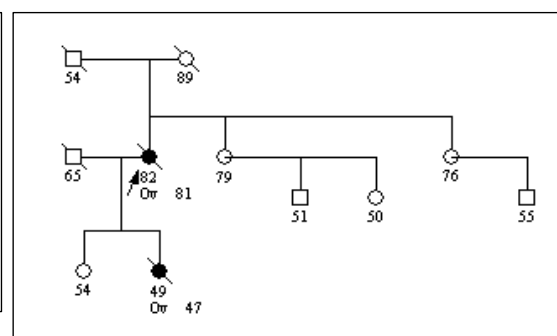


Abb.47 : Stammbaum der Familie 11161

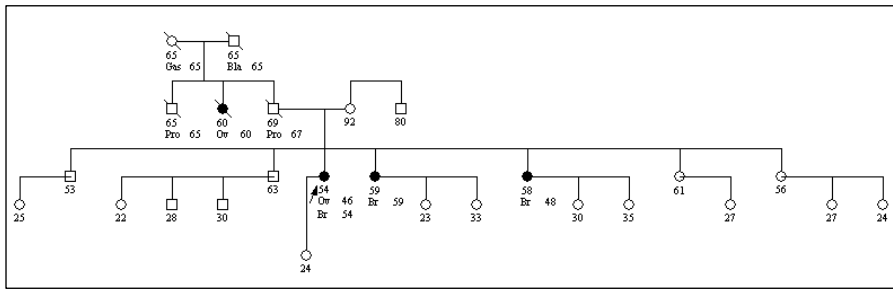


Abb.48 : Stammbaum der Familie 11142

7.2. Stammbäume der Familien ohne nachgewiesene Mutation

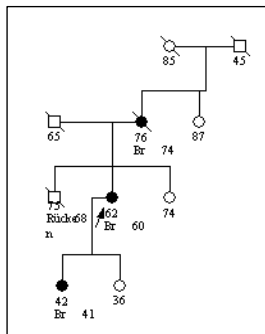


Abb.49 : Stammbaum der Familie 32321

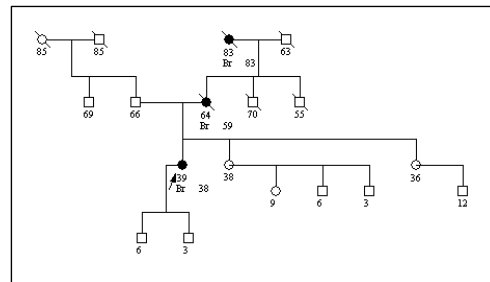


Abb.50 : Stammbaum der Familie 32316

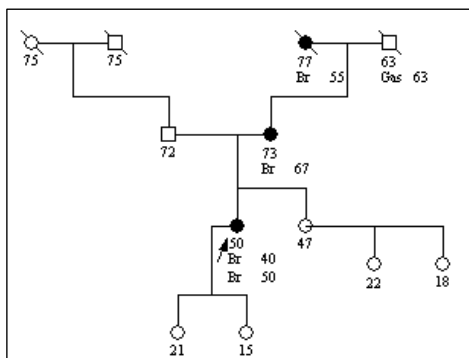


Abb.51 : Stammbaum der Familie 32311

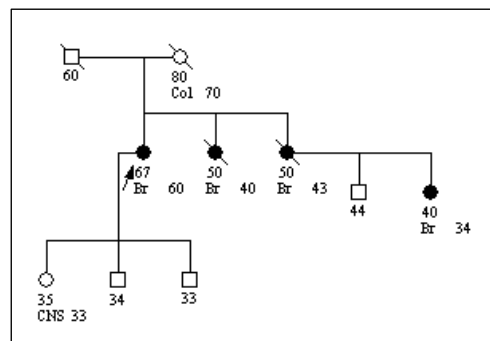


Abb. 52 : Stammbaum der Familie 32306

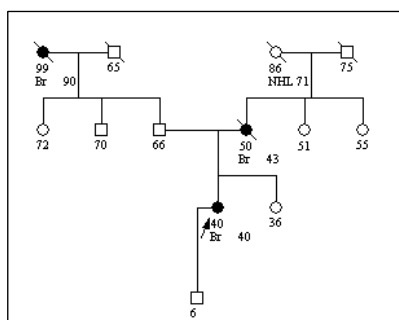


Abb.53 : Stammbaum der Familie 32305

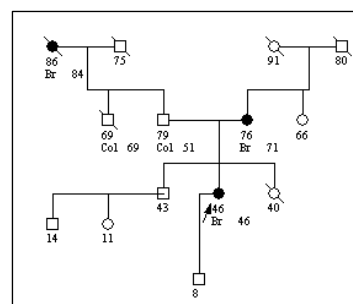


Abb.54 : Stammbaum der Familie 32304

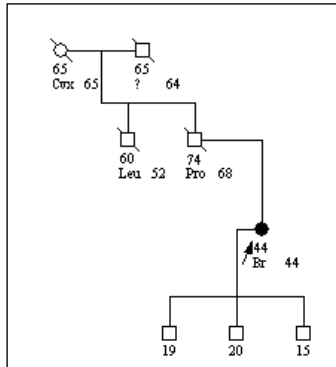


Abb.55 : Stammbaum der Familie 32303

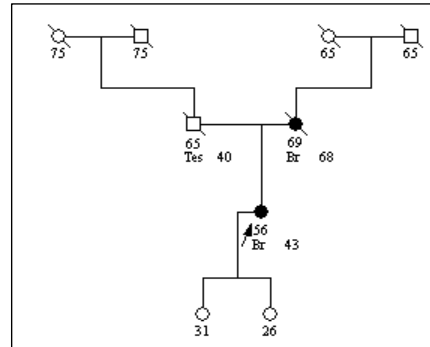


Abb.56 : Stammbaum der Familie 32300

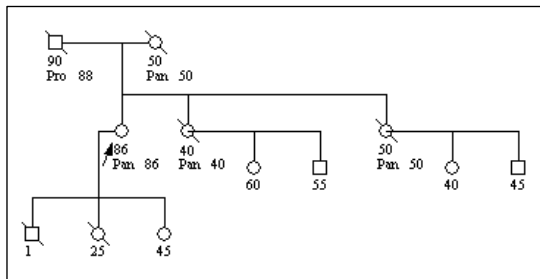


Abb.57 : Stammbaum der Familie 30638

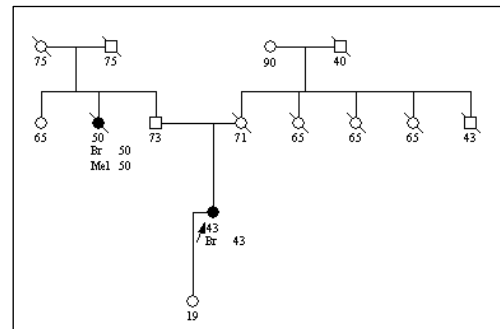


Abb.58 : Stammbaum der Familie 30098

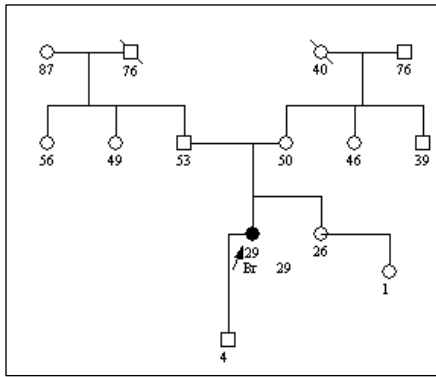


Abb.59 : Stammbaum der Familie 30097

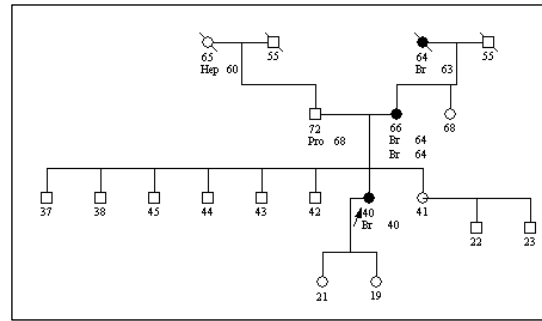


Abb.60 : Stammbaum der Familie 30096

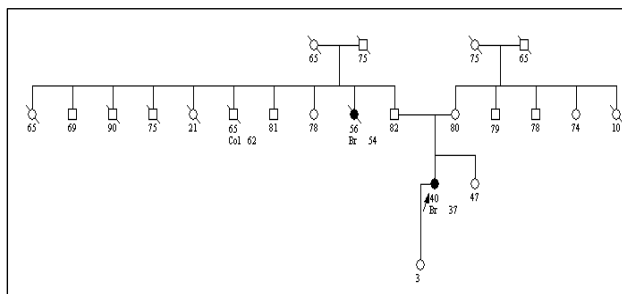


Abb.61 : Stammbaum der Familie 30094

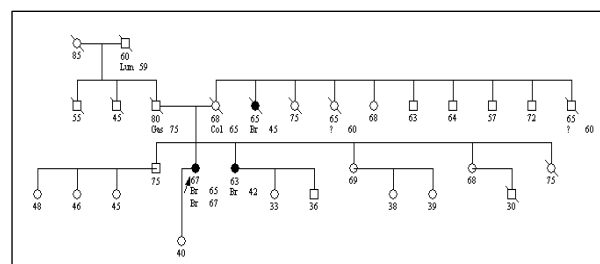


Abb.62 : Stammbaum der Familie 30093

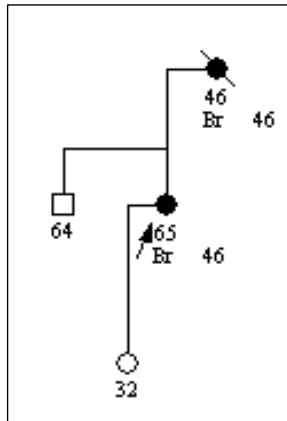


Abb.63 : Stammbaum der Familie 30091

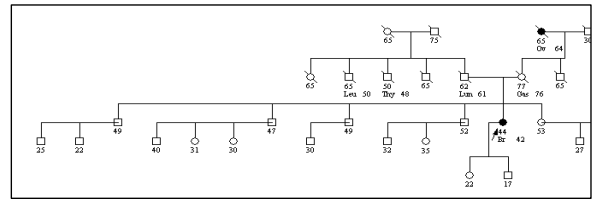


Abb.64 : Stammbaum der Familie 30089

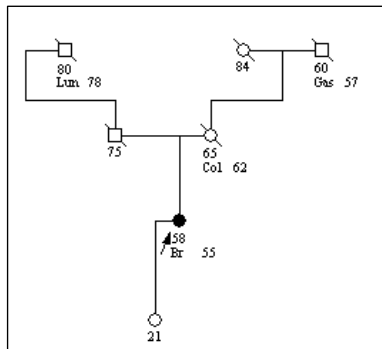


Abb.65 : Stammbaum der Familie 30088

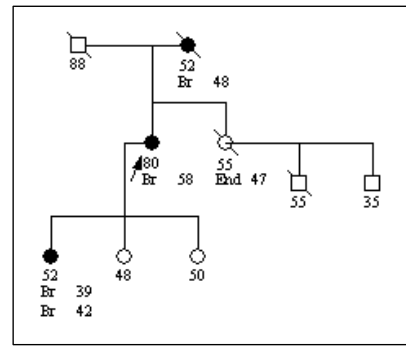


Abb.66 : Stammbaum der Familie 30087

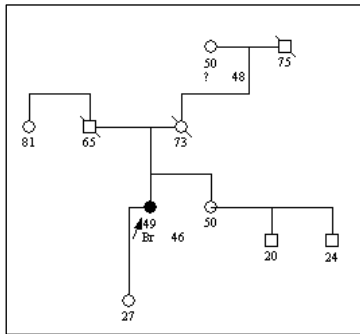


Abb.67 : Stammbaum der Familie 30083

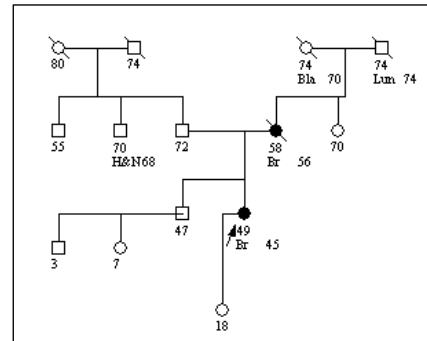


Abb.68 : Stammbaum der Familie 30080

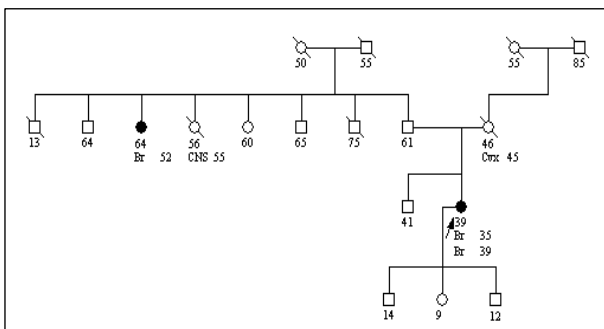


Abb.69 : Stammbaum der Familie 30077

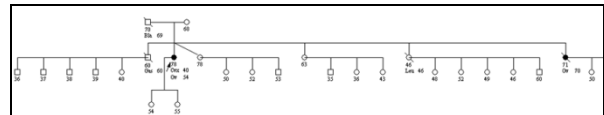


Abb.70 : Stammbaum der Familie 30076

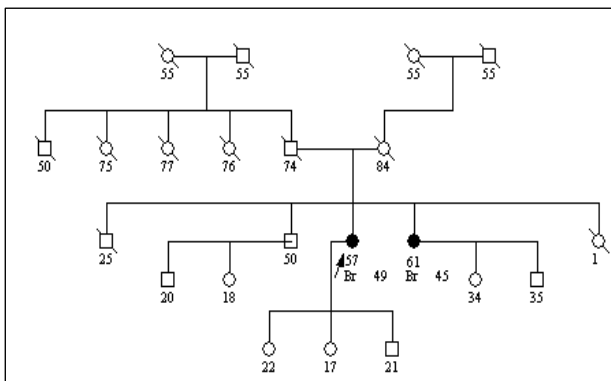


Abb.71 : Stammbaum der Familie 30075

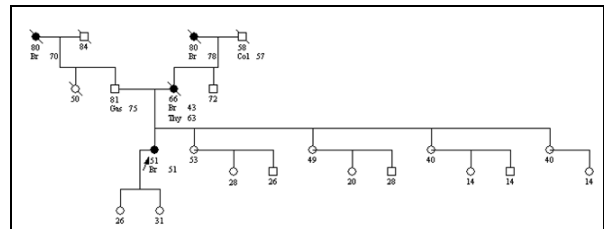


Abb.72 : Stammbaum der Familie 30074

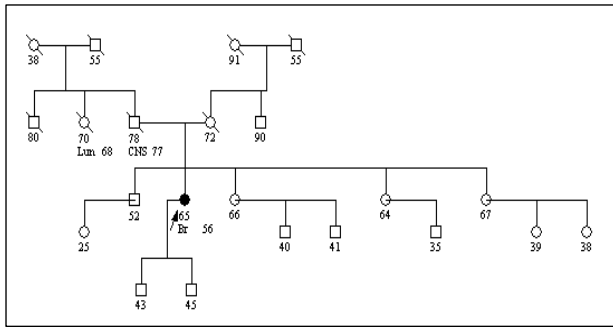


Abb.73 : Stammbaum der Familie 30072

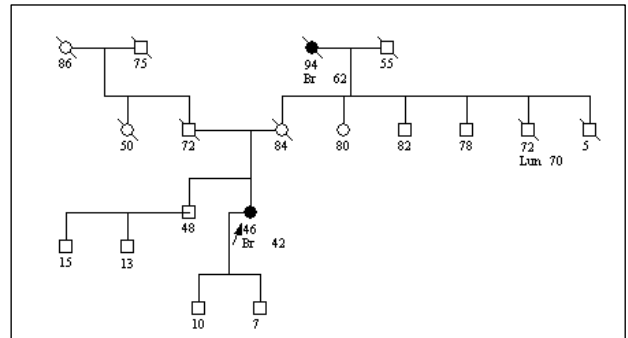


Abb.74 : Stammbaum der Familie 30071

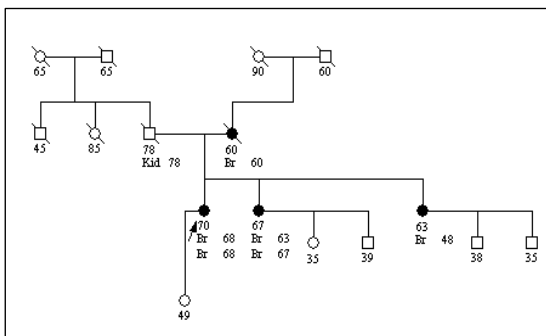


Abb.75 : Stammbaum der Familie 30070

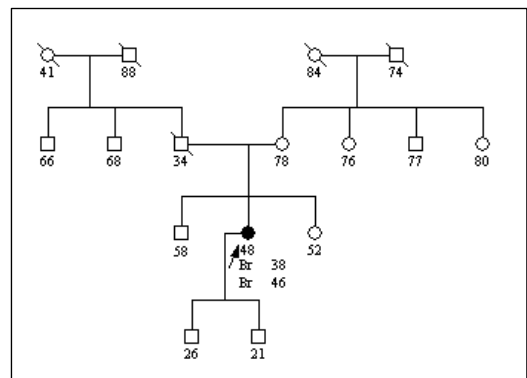


Abb.76 : Stammbaum der Familie 30069

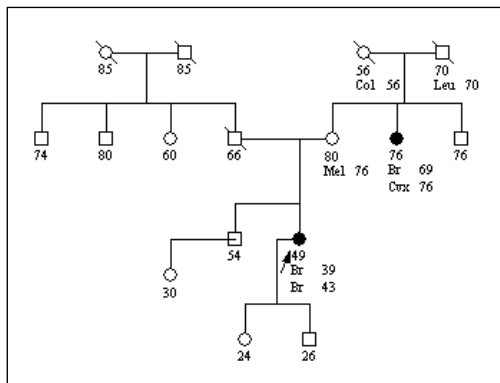


Abb.77 : Stammbaum der Familie 30066

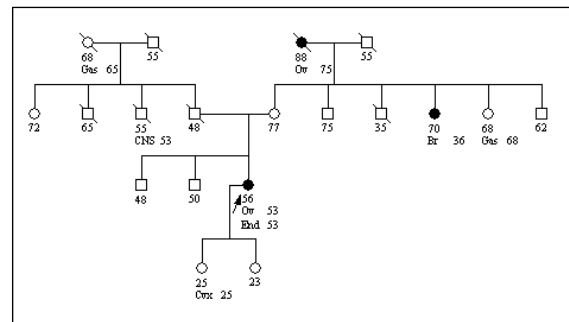


Abb.78 : Stammbaum der Familie 30065

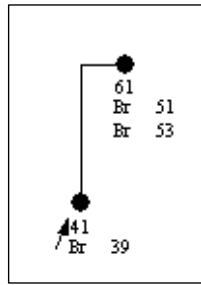


Abb.79 : Stammbaum der Familie 30062

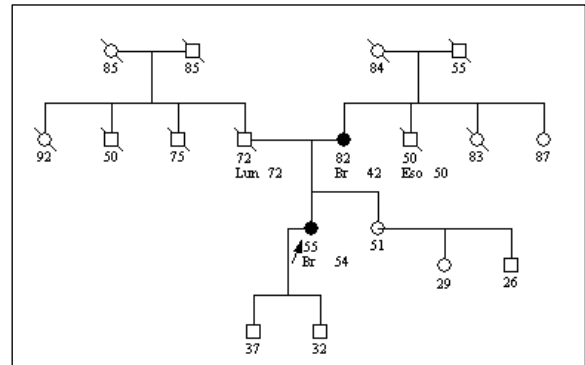


Abb.80 : Stammbaum der Familie 30061

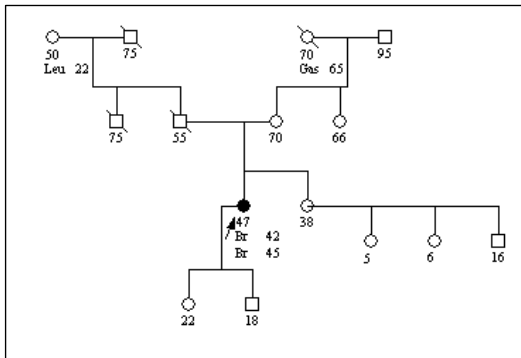


Abb.81 : Stammbaum der Familie 30056

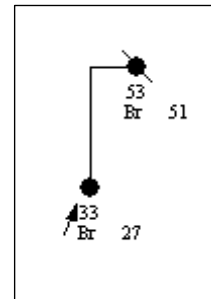


Abb.82 : Stammbaum der Familie 30050

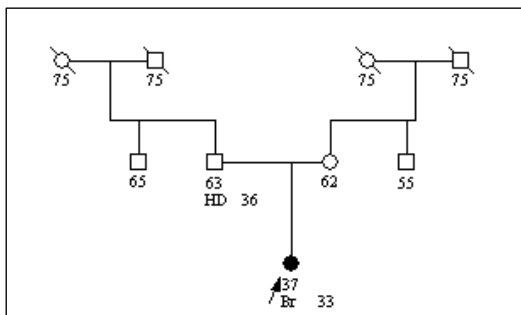


Abb.83 : Stammbaum der Familie 30049

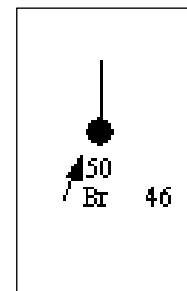


Abb.84 : Stammbaum der Familie 30044

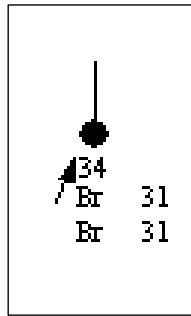


Abb.85 : Stammbaum der Familie 30043

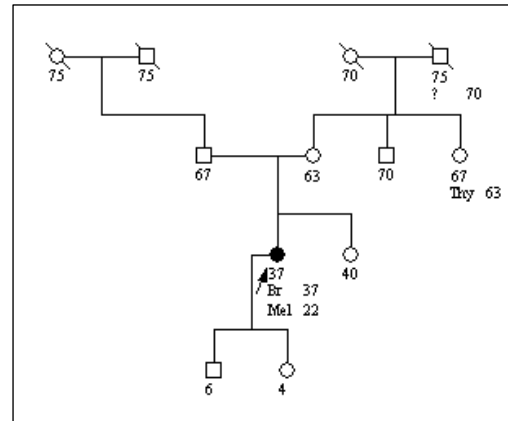


Abb.86 : Stammbaum der Familie 30042

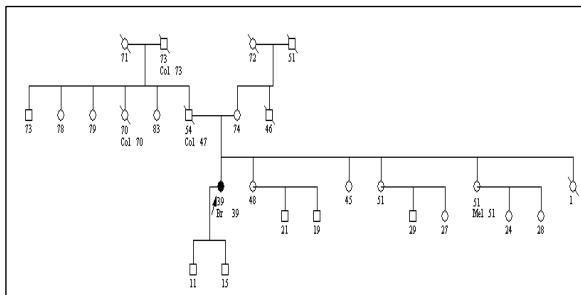


Abb.87 : Stammbaum der Familie 30040

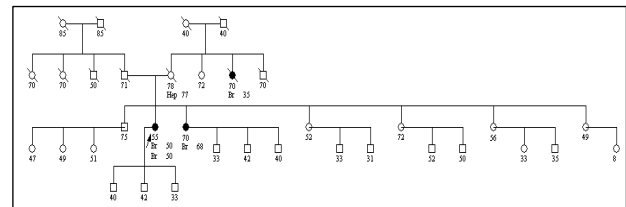


Abb.88 : Stammbaum der Familie 30038

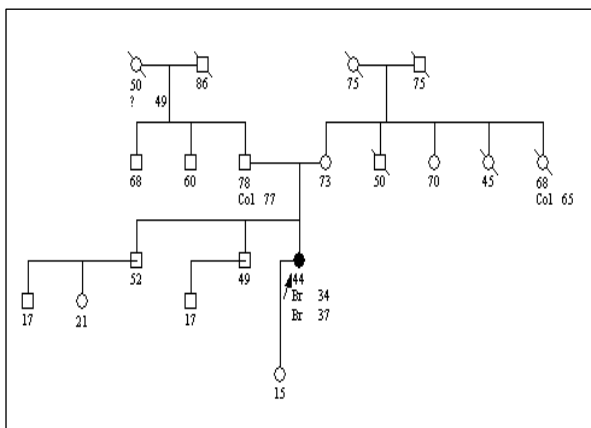


Abb.89 : Stammbaum der Familie 30036

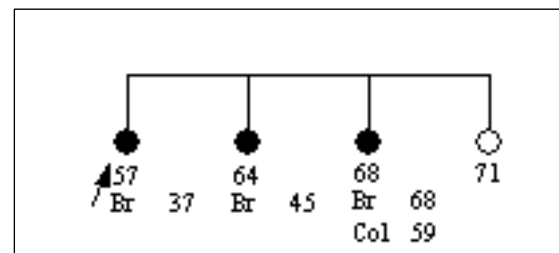


Abb.90 : Stammbaum der Familie 30034

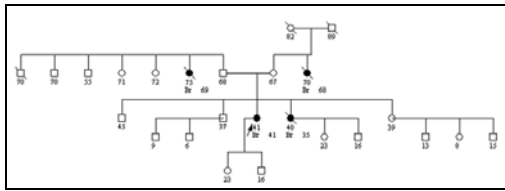


Abb.91

: Stammbaum der Familie 30029

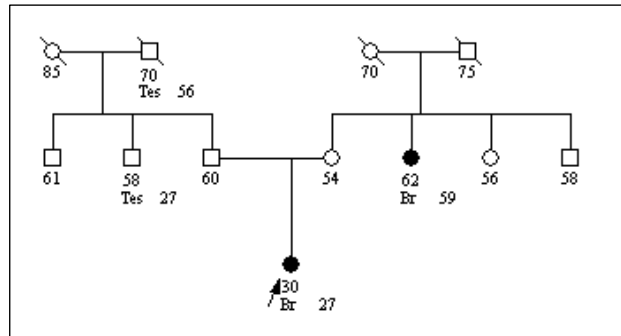


Abb.92 : Stammbaum der Familie 30027

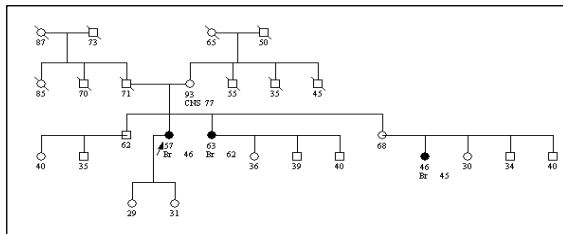


Abb.93 : Stammbaum der Familie 30026

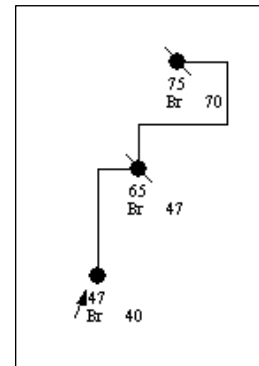


Abb.94 : Stammbaum der Familie 30025

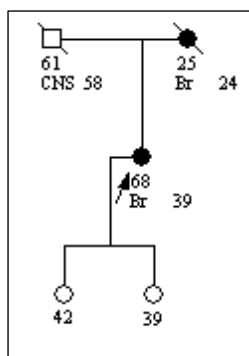


Abb.95 : Stammbaum der Familie 30023

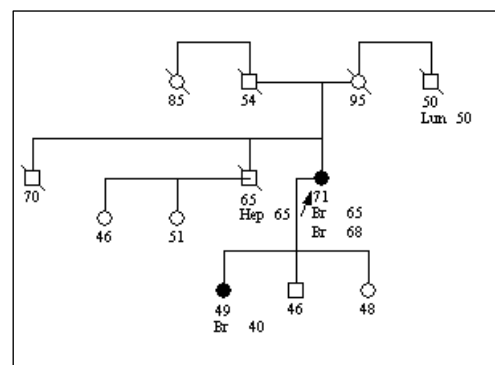


Abb.96 : Stammbaum der Familie 30022

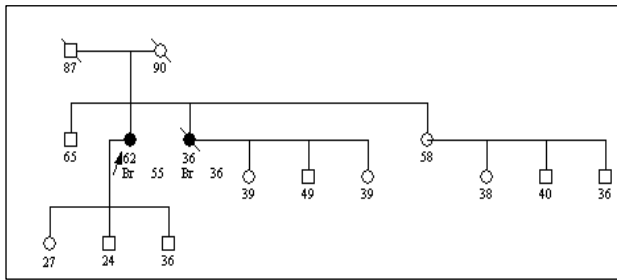


Abb.97 : Stammbaum der Familie 30020

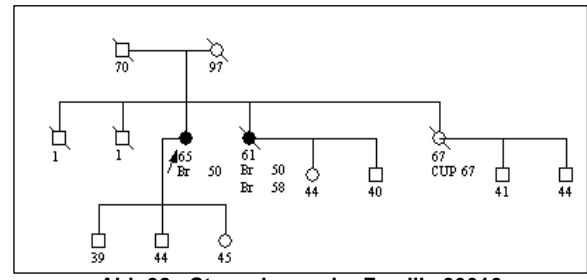


Abb.98 : Stammbaum der Familie 30016

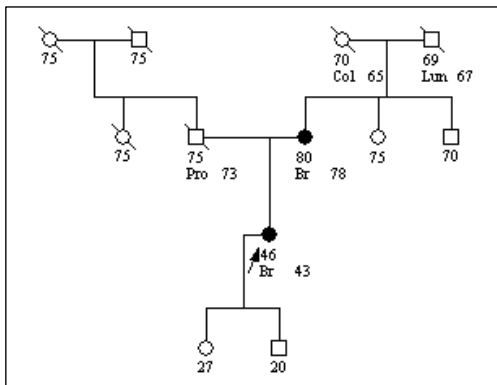


Abb.99 : Stammbaum der Familie 30013

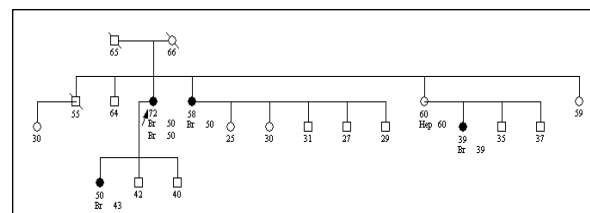


Abb.100 : Stammbaum der Familie 30011

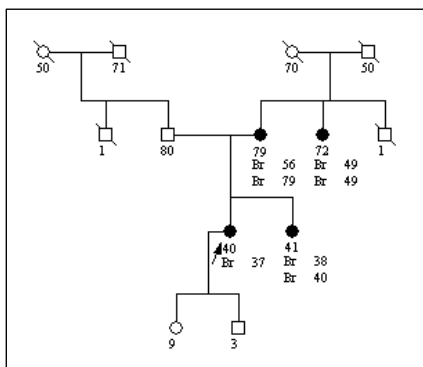


Abb.101 : Stammbaum der Familie 30010

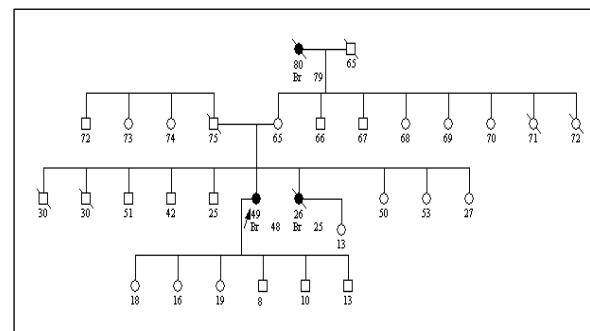


Abb.102 : Stammbaum der Familie 30009

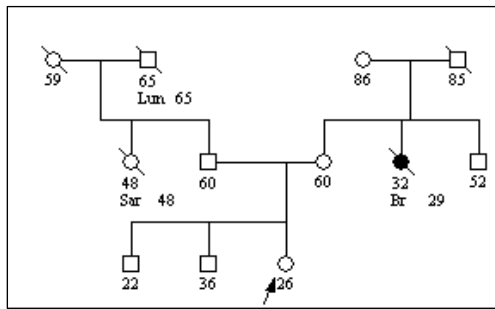


Abb.103 : Stammbaum der Familie 30008

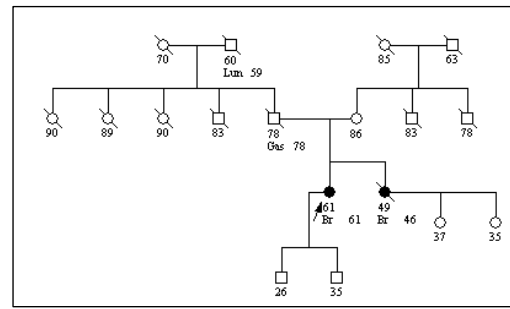


Abb.104 : Stammbaum der Familie 30002

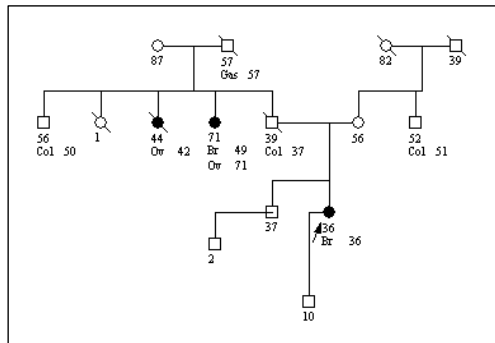


Abb.105 : Stammbaum der Familie 30001

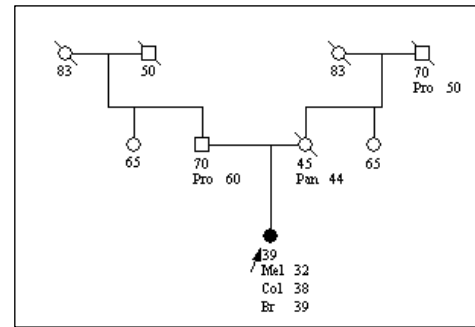


Abb.106 : Stammbaum der Familie 29616

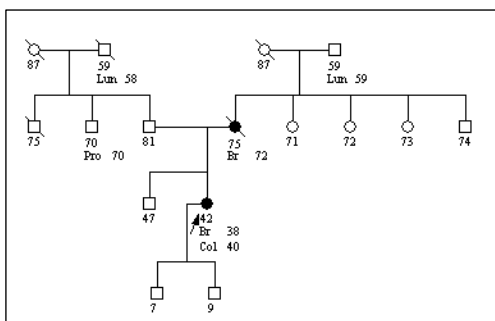


Abb.107 : Stammbaum der Familie 28659

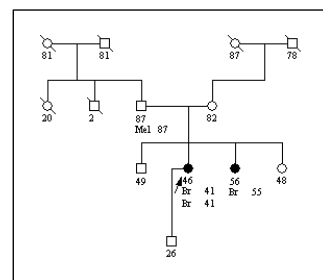


Abb.108 : Stammbaum der Familie 26997

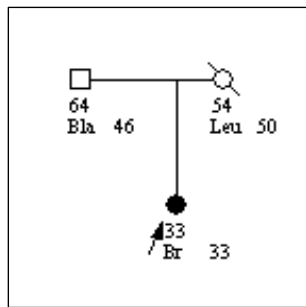


Abb.109 : Stammbaum der Familie 26996

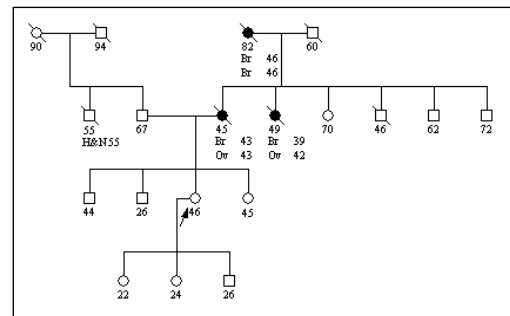


Abb.110 : Stammbaum der Familie 26991

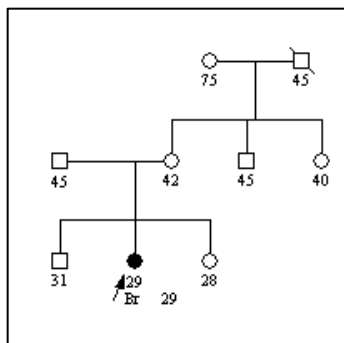


Abb.111 : Stammbaum der Familie 26989

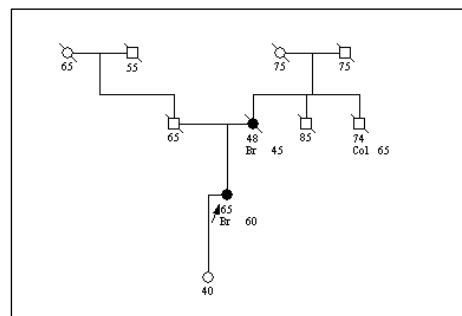


Abb.112 Stammbaum der Familie 26985

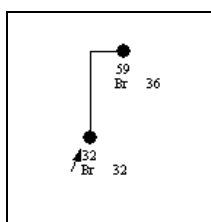


Abb.113 Stammbaum der Familie 26984

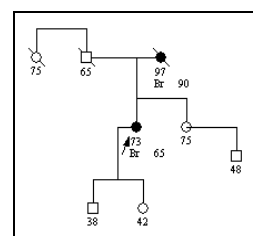


Abb.114 Stammbaum der Familie 26983

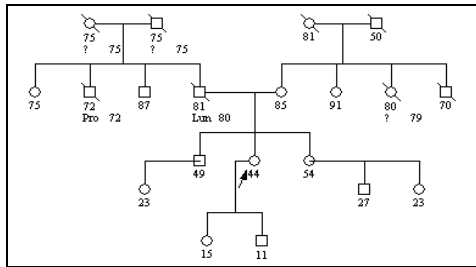


Abb.115: Stammbaum der Familie 26981

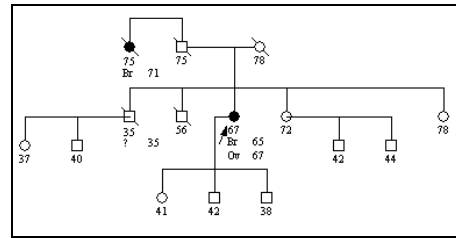


Abb.116: Stammbaum der Familie 26980

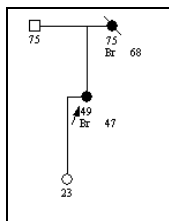


Abb.117: Stammbaum der Familie 26978

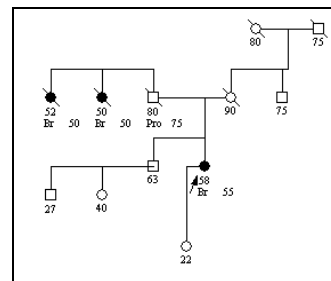


Abb.118: Stammbaum der Familie 26975

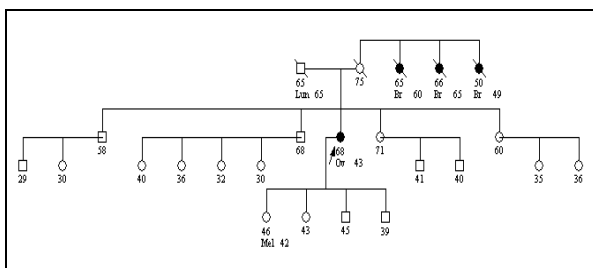


Abb.119: Stammbaum der Familie 26973

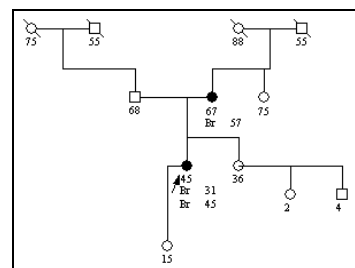


Abb.120: Stammbaum der Familie 26972

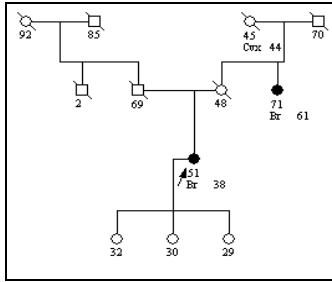


Abb.121: Stammbaum der Familie 26967

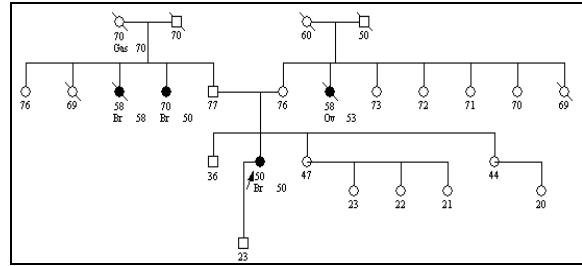


Abb.122: Stammbaum der Familie 26964

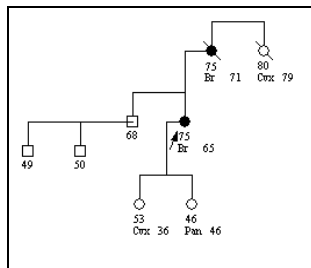


Abb.123: Stammbaum der Familie 26963

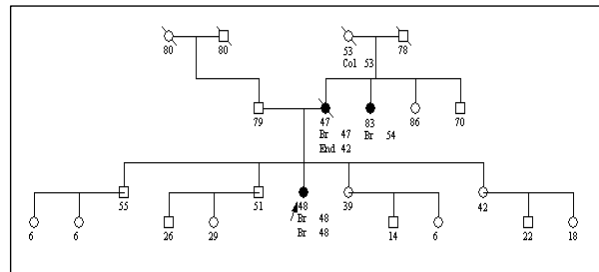


Abb.124: Stammbaum der Familie 26962

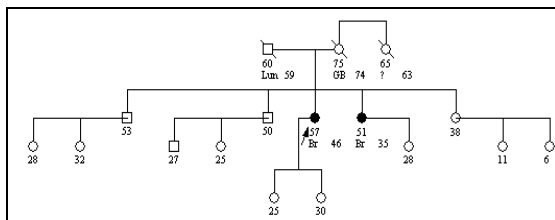


Abb.125: Stammbaum der Familie 26959

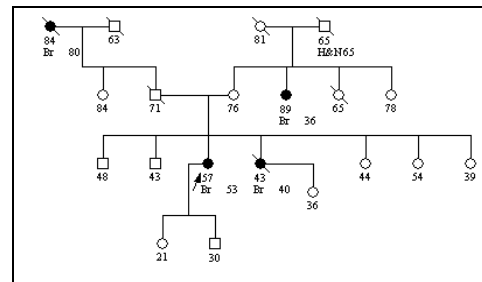


Abb.126: Stammbaum der Familie 26954

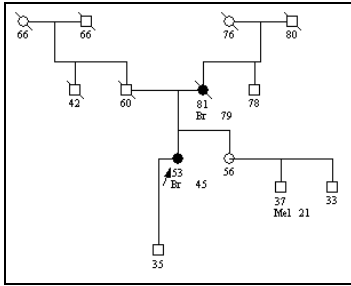


Abb.127: Stammbaum der Familie 26953

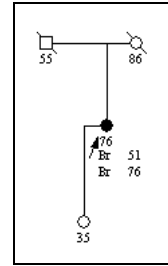


Abb.128: Stammbaum der Familie 26952

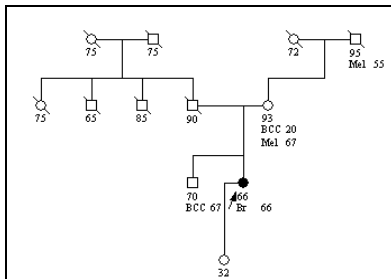


Abb.129: Stammbaum der Familie 26951

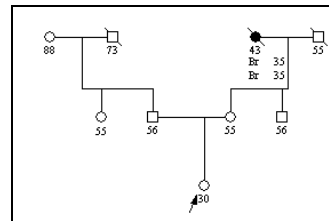


Abb.130: Stammbaum der Familie 26949

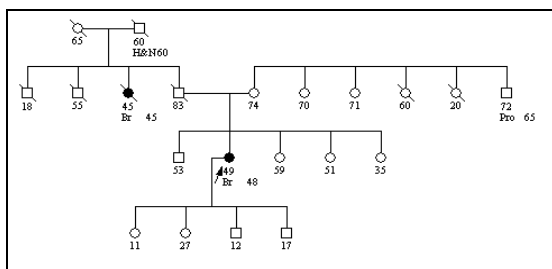


Abb.131: Stammbaum der Familie 26945

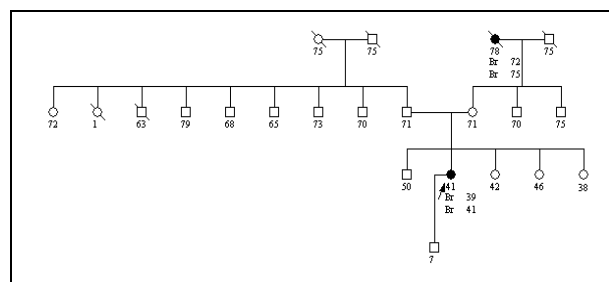


Abb.132: Stammbaum der Familie 26944

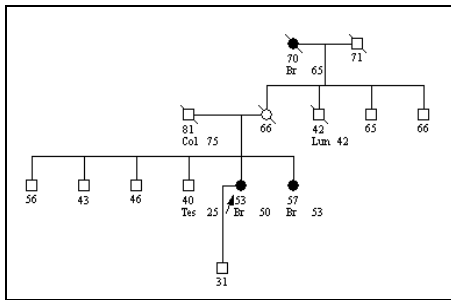


Abb.133: Stammbaum der Familie 26943

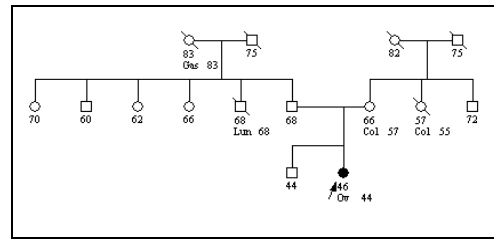


Abb.134: Stammbaum der Familie 26940

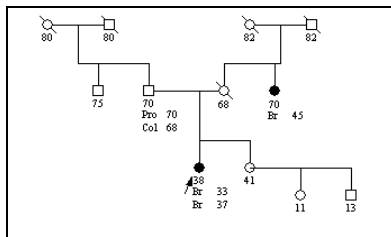


Abb.135: Stammbaum der Familie 26938

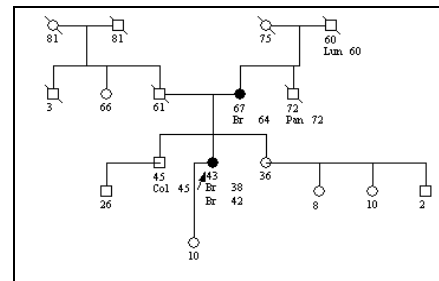


Abb.136: Stammbaum der Familie 26936

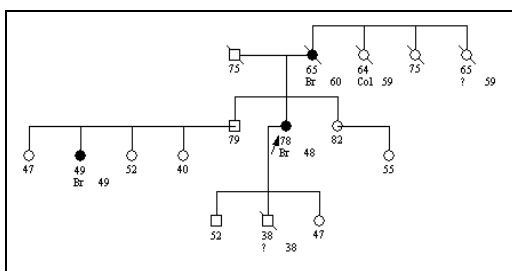


Abb.137: Stammbaum der Familie 26934

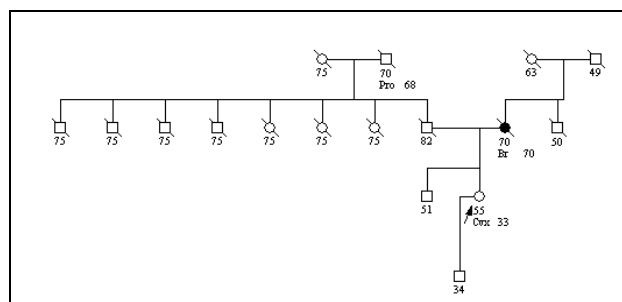


Abb.138: Stammbaum der Familie 26932

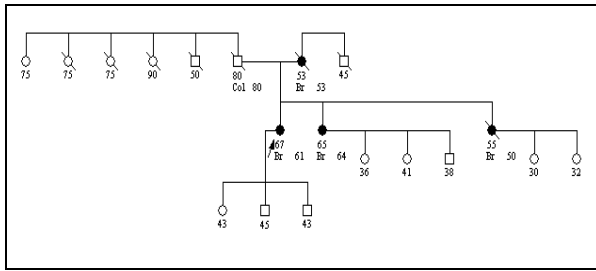


Abb.139: Stammbaum der Familie 26931

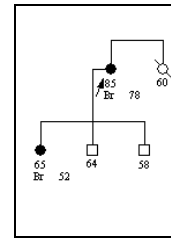


Abb.140: Stammbaum der Familie 26926

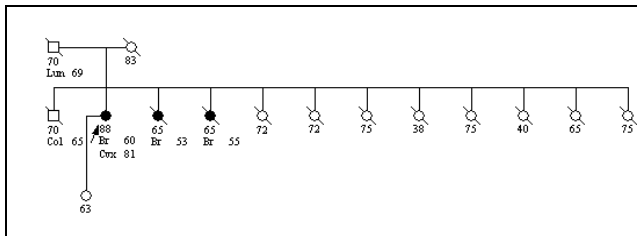


Abb.141: Stammbaum der Familie 26925

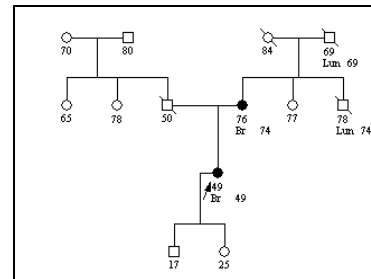


Abb.142: Stammbaum der Familie 26923

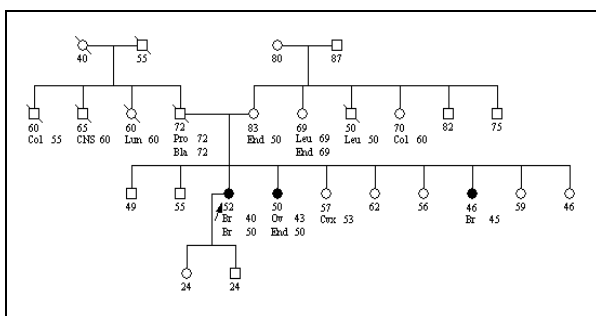


Abb.143: Stammbaum der Familie 26921

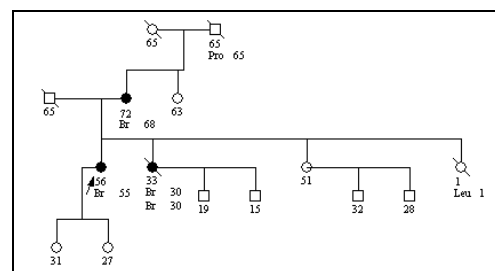


Abb.144: Stammbaum der Familie 26920

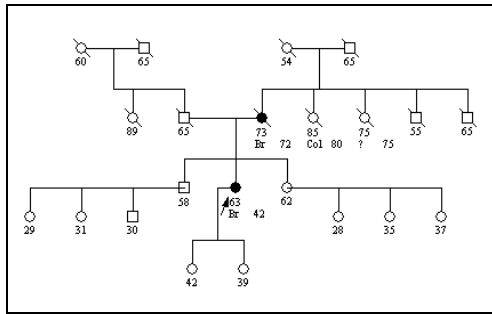


Abb.145: Stammbaum der Familie 26916

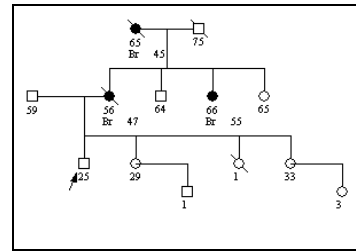


Abb.146: Stammbaum der Familie 26913

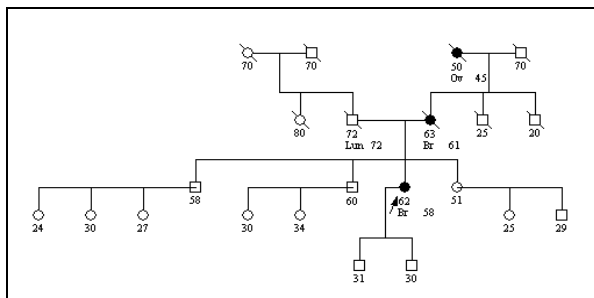


Abb.147: Stammbaum der Familie 26912

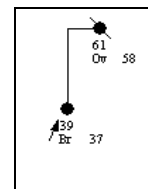


Abb.148: Stammbaum der Familie 26905

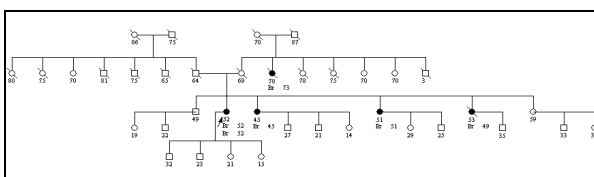


Abb.149: Stammbaum der Familie 26903

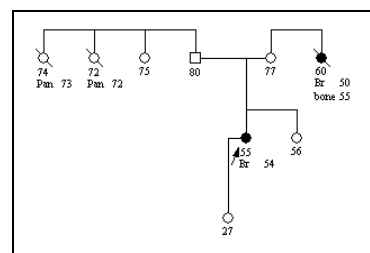


Abb.150: Stammbaum der Familie 25157

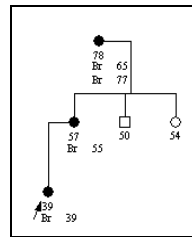


Abb.151: Stammbaum der Familie 25143

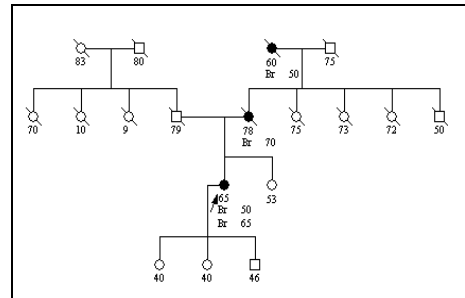


Abb.152: Stammbaum der Familie 24434

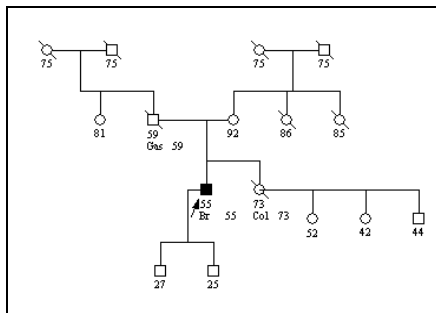


Abb.153: Stammbaum der Familie 11203

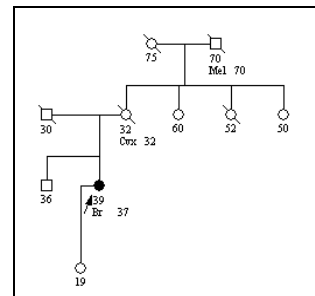


Abb.154: Stammbaum der Familie 11201

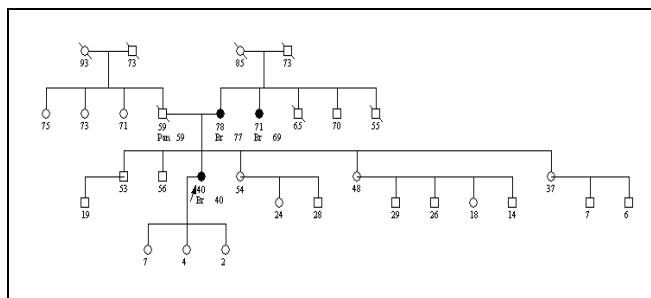


Abb.155: Stammbaum der Familie 11188

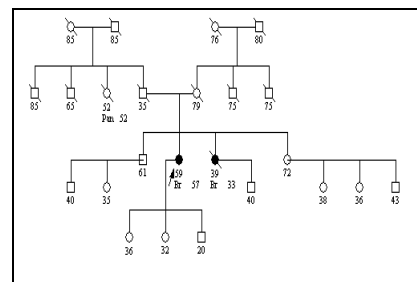


Abb.156: Stammbaum der Familie 11186

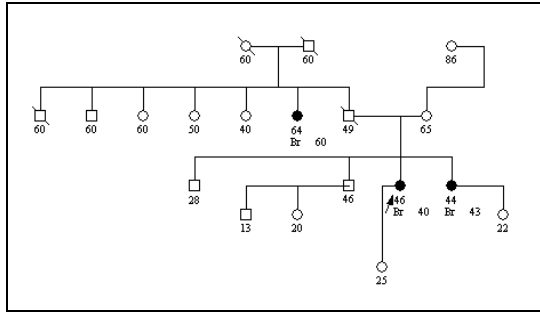


Abb.157: Stammbaum der Familie 11185

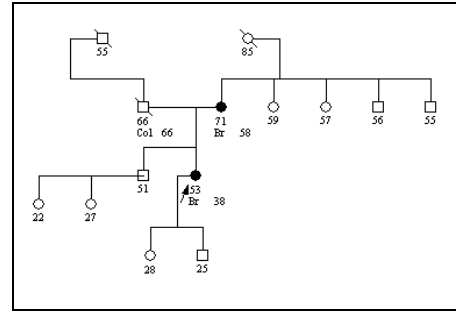


Abb.158: Stammbaum der Familie 11184

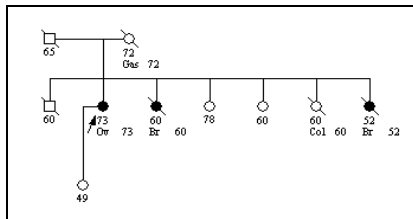


Abb.159: Stammbaum der Familie 11181



Abb.160: Stammbaum der Familie 11179

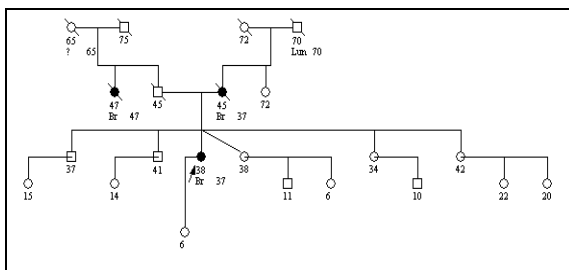


Abb.161: Stammbaum der Familie 11175

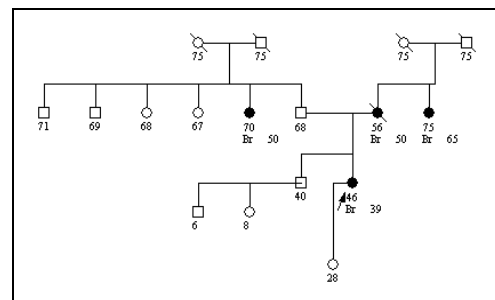


Abb.162: Stammbaum der Familie 11173

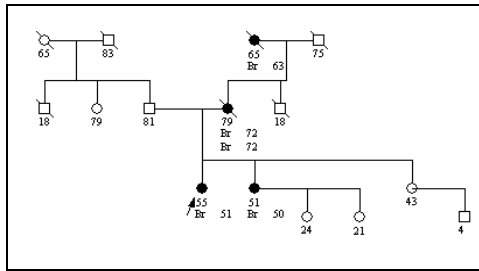


Abb.163: Stammbaum der Familie 11171

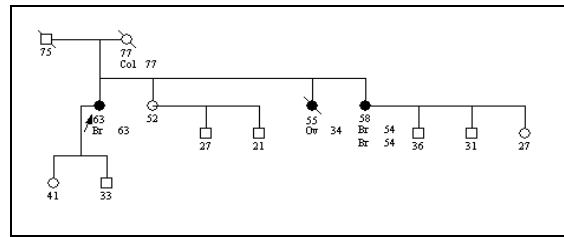


Abb.164: Stammbaum der Familie 11166

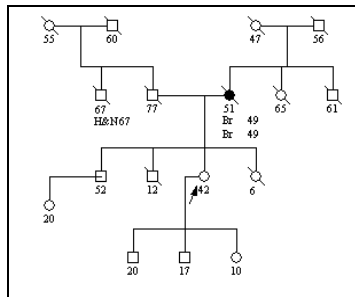


Abb.165: Stammbaum der Familie 11156

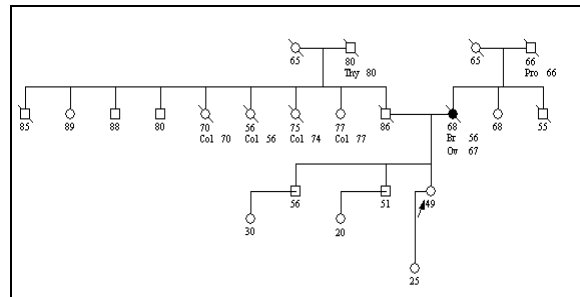


Abb.166: Stammbaum der Familie 11155

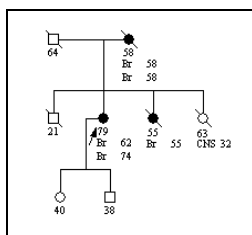


Abb.167: Stammbaum der Familie 11154

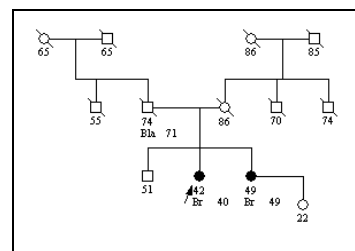


Abb.168: Stammbaum der Familie 11153

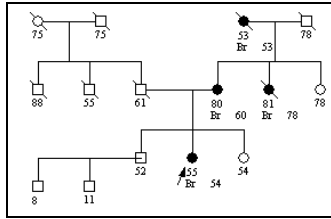


Abb.169: Stammbaum der Familie 11152

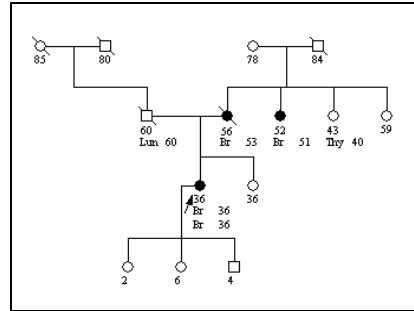


Abb.170: Stammbaum der Familie 11149

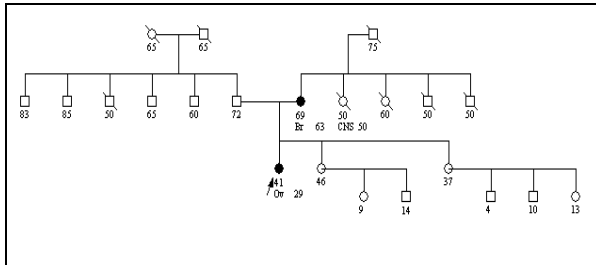


Abb.171: Stammbaum der Familie 11146

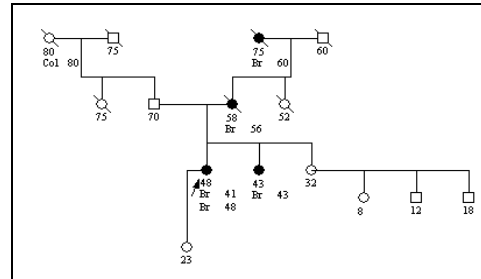


Abb.172: Stammbaum der Familie 11140

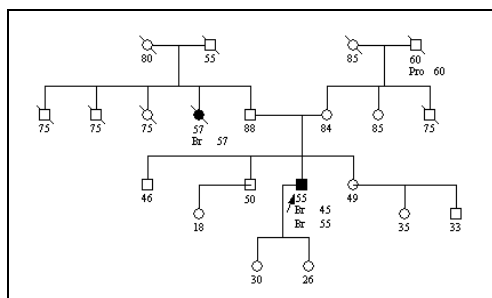


Abb.173: Stammbaum der Familie 11139

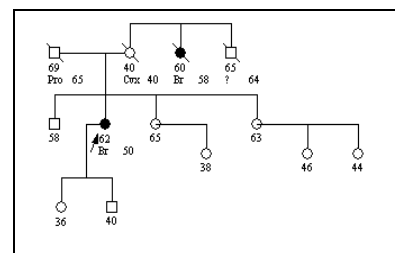


Abb.174: Stammbaum der Familie 11138

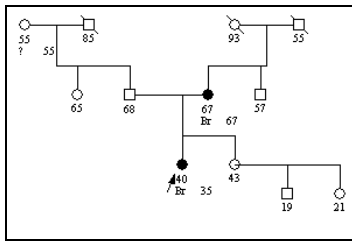


Abb.175: Stammbaum der Familie 11134

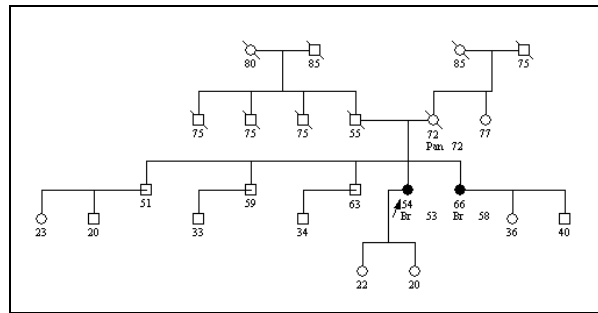


Abb.176: Stammbaum der Familie 11132

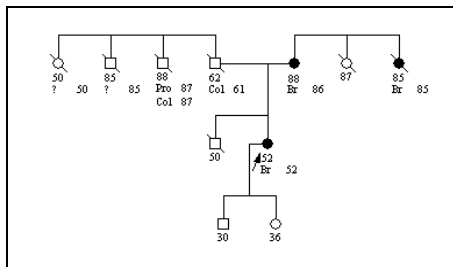


Abb.177: Stammbaum der Familie 11131

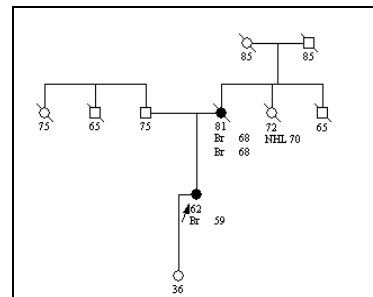


Abb.178: Stammbaum der Familie 11129

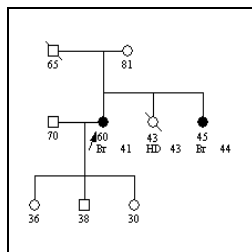


Abb.179: Stammbaum der Familie 11127

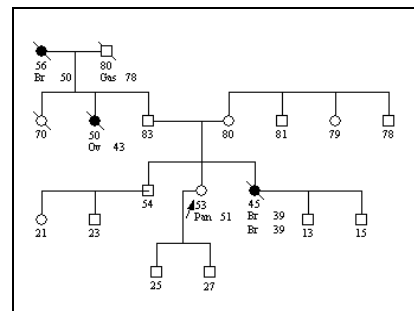


Abb.180: Stammbaum der Familie 11125

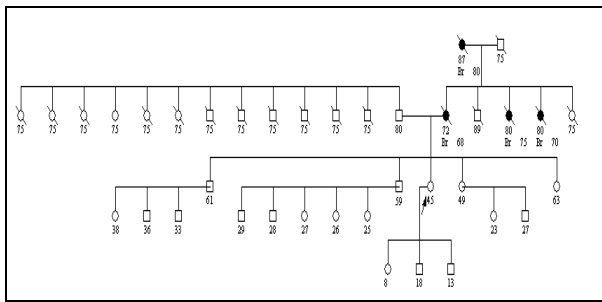


Abb.181: Stammbaum der Familie 11124

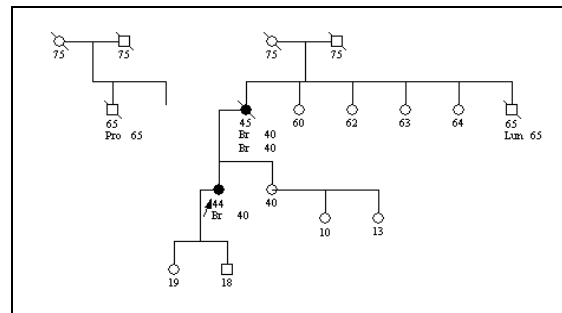


Abb.182: Stammbaum der Familie 11121

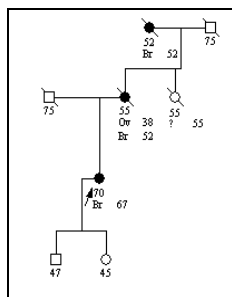


Abb.183: Stammbaum der Familie 11114

7.3. Risikoprofil der Familien ohne nachgewiesene Mutation

Tab. 23: Risikoprofil der Indexpatienten ohne nachgewiesene Mutation. Am Beispiel der Patientin 32321 wird die Tabelle exemplarisch erklärt. Für die Ratsuchende konnte in der molekulargenetischen Untersuchung keine ursächliche Mutation gefunden werden. Dabei ergaben die Risikokalkulationen folgende Wahrscheinlichkeiten für eine Mutationsträgerschaft in *BRCA1* oder *BRCA2*: BRCAPRO: 2,5%, BOADICEA: 7,18% und MYRIAD: 5,3.

Patientennr.	Risiko in BRCAPRO	Risiko in BOADICEA	Risiko in MYRIAD
32321	2,50	7,18	5,30
32316	6,30	9,23	6,80
32311	34,90	29,74	6,80
32306	52,70	30,44	11,40
32305	8,80	8,99	15,80
32304	1,5	4,03	6,8
32303	13,40	10,83	16,90

32300	2,10	4,89	6,80
30638	0,00	0,23	2,80
30098	3	6,94	6,8
30097	3,7	4,07	6,8
30096	19,1	39,17	6,8
30094	1,8	3,69	6,8
30093	1,6	9,61	11,4
30091	8,4	2,78	5,02
30089	4	7,5	16,9
30088	0,07	1,88	2,9
30087	95	79,9	15,9
30083	0,9	2,06	6,8
30080	3,10	5,07	6,80
30077	51,4	79,78	6,8
30076	1,8	3,67	21,1
30075	1,5	18,24	15,8
30074	4,2	5,22	5,3
30072	0,1	0,64	2,9
30071	1	3,49	6,8
30070	21,8	72,26	5,3
30069	17,8	15,27	6,8
30066	62	37,73	16,9
30065	16,8	6,36	46,5
30062	52,6	38,32	6,8
30061	0,9	1,88	5,3
30056	17,7	17,62	6,8
30050	25,9	18,97	6,8
30049	2,8	4,41	6,8
30044	2,3	2,81	6,80
30043	71,10	74,22	6,80
30042	1,90	31,40	6,80
30040	0,40	7,00	6,80
30038	5,40	9,91	5,30
30036	36,00	37,50	6,80
30034	12,00	4,89	15,80
30029	12,90	12,99	15,80
30027	5,40	7,71	6,80
30026	1,40	2,68	15,80
30025	12,60	11,61	15,80
30023	31,70	9,42	15,80
30022	3060	26,49	5,30
30020	3,90	7,06	5,30
30016	8,20	11,04	2,90
30013	1,20	5,70	6,80
30011	81,60	37,46	11,40
30010	95,20	91,76	30,10
30009	6,90	5,33	15,80
30008	0,60	0,60	4,50
30002	0,50	3,34	5,30

30001	73,90	33,36	30,10
29616	1,60	21,87	6,80
28659	1,60	5,00	6,80
26997	35,20	27,66	6,80
26996	4,90	7,20	6,80
26991	41,20	38,24	12,20
26989	5,90	6,71	6,80
26985	2,20	4,63	5,30
26984	35,70	18,50	15,80
26983	0,20	0,71	2,90
26981	0,00	0,16	2,80
26980	5,10	11,60	17,60
26978	2,50	5,56	6,80
26975	7,50	12,49	2,90
26973	3,50	9,85	23,10
26972	45,50	39,51	6,80
26967	22,3	23,65	16,9
26964	1,70	3,53	6,40
26963	0,30	7,88	2,90
26962	47,10	29,45	15,80
26959	9,90	6,44	15,80
26954	3,30	1,76	11,40
26953	1,20	2,32	6,80
26952	1,90	9,38	2,90
26951	0,10	1,10	2,90
26949	9,50	5,99	4,50
26945	2,50	4,32	15,80
26944	24,80	44,67	6,80
26943	3,90	6,91	2,90
26940	1,20	2,36	8,80
26938	47,90	64,18	15,80
26936	37,7	43,75	6,80
26934	1,10	1,68	15,80
26932	0,10	0,72	2,80
26931	8,50	3,37	2,90
26926	0,50	2,48	2,90
26925	0,10	2,65	2,90
26923	0,70	3,01	6,80
26921	75,60	57,89	39,20
26920	68,60	62,36	5,30
26916	0,60	2,61	6,80
26913	6,00	2,15	8,70
26912	9,40	16,63	6,40
26905	35,50	26,46	16,90
26903	52,60	40,56	11,40
25157	0,70	1,12	2,90
25143	20,60	37,30	6,80
24434	3,60	24,36	2,90
11203	2,80	7,97	12,80

11201	21,70	13,82	16,90
11188	1,20	9,92	6,80
11186	2,20	10,39	5,30
11185	12,20	10,43	15,80
11184	3,50	3,40	6,80
11181	43,90	25,18	21,10
11179	1,00	5,83	15,80
11175	18,60	12,34	30,10
11173	10,70	11,36	6,80
11171	16,00	51,57	2,90
11166	32,70	29,88	6,40
11156	5,20	7,13	4,50
11155	5,50	4,95	5,60
11154	28,10	67,44	2,90
11153	6,40	11,45	15,80
11152	2,50	6,49	2,90
11149	84,60	68,74	6,80
11146	8,80	0,68	8,80
11140	88,40	67,11	15,80
11139	89,10	20,86	2,80
11138	16,40	28,98	6,40
11134	3,60	7,91	6,80
11132	0,90	3,14	2,90
11131	0,90	1,20	2,90
11129	1,00	22,68	2,90
11127	8,30	19,90	15,80
11125	33,80	51,52	12,20
11124	0,10	2,31	2,80
11121	48,50	28,90	15,80
11114	37,10	7,12	6,40

Danksagung

Einen besonderen Dank möchte ich Herrn **Prof. Dr. med. Dr. h. c. Wolfgang Engel** aussprechen, insbesondere für seine vorbildliche fachliche Betreuung. Mit seiner unermüdlichen Unterstützung hat er wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Des Weiteren danke ich Frau Dr.med. Ulrike Engel für die Bereitstellung der Daten aus ihrer Brustkrebssprechstunde, die große Hilfestellung und ständige Erreichbarkeit.

Großer Dank gilt weiterhin Herrn Dr. med. Moneef Shoukier, der durch seine Unterstützung die Fertigstellung dieser Arbeit entscheidend vorangetrieben hat und mir zu jeder Zeit ein wertvoller Ansprechpartner und Ratgeber war.

Außerdem gilt mein Dank Herrn Mag. Albert Rosenberger aus der Abteilung für genetische Epidemiologie der Universität Göttingen. Hier wurde mir große Hilfe für die Auswahl und die korrekte Anwendung der statistischen Methoden entgegengebracht. Auch für die anschließende Durchsicht meiner Arbeit möchte ich mich herzlichst bedanken.

An dieser Stelle möchte ich mich zudem für die große Unterstützung namentlich bei Nils Lennart Schneegans, Kai Enno Tammerna sowie Dipl. des. Johanna Reinke bedanken, welche die Fertigstellung dieser Arbeit in besonderem Maße unterstützt haben.

Lebenslauf

Am 14.05.1985 wurde ich als zweites von vier Kindern von Dr. med. Bernward Schneegans und Ulrike Schneegans, geb. Nolte, in Göttingen geboren.

Von 1991 bis 2004 besuchte ich zunächst die Grundschule in Rhumspringe und die Orientierungsstufe der St. Ursula Schule, Duderstadt. Im Rahmen meiner gymnasialen Schullaufbahn besuchte ich das Eichsfeld Gymnasium Duderstadt, das 6th- form College der Hove- Park School Brighton, Großbritannien, und schließlich die Oberstufe des Otto- Hahn Gymnasiums in Göttingen. 2004 absolvierte ich dort mein Abitur. Von 2004 bis 2011 studierte ich Humanmedizin an der Georg- August- Universität, Göttingen und verbrachte ein Auslandssemester an der Universidad de Granada, Spanien. Mein Studium werde ich mit dem Staatsexamen im Jahr 2011 abschließen.