

Beate Breitschopf  
Dr. med.

## **Zelluläre DNA-Reparaturkapazität und Poly(ADP-Ribose) Polymerase-Aktivität nach Bleomycin-Induktion bei Patienten mit Larynx-Karzinom: Untersuchungen im Rahmen einer Fall-Kontroll-Studie**

Geboren am 28.11.1975 in Schwäbisch Hall  
Reifeprüfung am 21.06.1995 in Schwäbisch Hall  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1996 bis WS 2002  
Physikum am 25.03.1998 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg  
Praktisches Jahr in Kapstadt/Schwetzingen  
Staatsexamen am 21.10.2002 am Kreiskrankenhaus Schwetzingen, Lehrkrankenhaus der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Toxikologie und Krebsrisikofaktoren (DKFZ)  
Doktorvater: Herr Prof. Dr. rer. nat. H. Bartsch

Das Larynx-Karzinom gilt als der häufigste bösartige Tumor im Kopf-Hals Bereich. Risikofaktoren für seine Entstehung sind Umwelteinflüsse und Lebensstil, insbesondere der Konsum von Tabak und Alkohol. Jedoch wurden auch familiäre Häufungen von Kehlkopfkrebs beobachtet; eine erhöhte Suszeptibilität gegenüber Krebs wird daher als weiterer Risikofaktor gewertet. Biomarker für eine solche erhöhte Krebs susceptibility wurden identifiziert; hierbei verdient die individuelle Fähigkeit der zellulären Reparatur von DNA-Schäden besondere Beachtung. Es existieren eine Reihe von genotypischen und phänotypischen Tests zur Erfassung der DNA-Reparaturkapazität (DRC) einer Zelle. Anhand dieser Tests konnte für Malignome wie z. B. das Bronchial-Karzinom eine reduzierte DRC bestätigt werden. Zur Identifizierung krebgefährdeter Individuen sind derartige Untersuchungen in zunehmenden Maße wünschenswert. In der vorliegenden Arbeit wurde die Einzelzell-Mikrogelelektrophorese (MGE, Comet Assay) als phänotypisches Kurzzeit-Testverfahren zur Beurteilung der DRC bei Kehlkopfkrebspatienten eingesetzt. Als Testzellen dienten Lymphozyten, entnommen aus peripher-venösem Blut von Teilnehmern an einer Fall-Kontroll-Studie zum Larynx-Karzinom; die Messung der DRC erfolgte nach Behandlung der Lymphozyten mit der mutagenen Substanz Bleomycin (BLM).

Das Enzym Poly(ADP-Ribose) Polymerase (PARP) spielt eine komplexe Rolle bei der Reparatur von DNA-Schäden; es wird durch das Auftreten von DNA-Strangbrüchen aktiviert. Dagegen führt eine Überaktivierung der PARP aufgrund eines massiven Zellschadens zur Einleitung des akuten nekrotischen Zelltodes. Beim Ablauf des programmierten Zelltodes – der Apoptose – findet eine Aufspaltung der PARP und damit eine Hemmung des Enzyms statt. Der PARP kommt folglich auch bei der Entscheidung über die Art des Zelltodes eine wichtige Rolle zu. Zu dem in der vorliegenden Arbeit untersuchten Kollektiv lagen bereits Daten zur PARP-Aktivität nach Behandlung mit BLM vor, die einer erneuten statistischen Auswertung unterzogen wurden. Ein möglicher Zusammenhang zwischen DRC und PARP-Aktivität war dabei von besonderem Interesse.

Die anhand des Comet Assays gewonnenen vorliegenden Daten zu den Messungen der DRC an Lymphozyten von 67 Kehlkopfkrebspatienten und 120 gesunden Kontrollpersonen offenbarten keine signifikanten Unterschiede der DRC zwischen Fall- und Kontrollgruppe. Dieses Resultat entspricht nicht den Ergebnissen von Studien aus der Vergangenheit, wobei es bislang an Untersuchungen zu Kopf-Hals-Tumoren mit dem Comet Assay mangelt. Die Beurteilung von DNA-Strangbrüchen – wie sie durch BLM ausgelöst werden – ist in

vergangenen Studien aufgrund anderer mutagener Mechanismen der ausgewählten Agenzien nur sehr eingeschränkt möglich. Des Weiteren könnten methodische Unterschiede und Unterschiede beim Fall-Kontroll-Kollektiv von Bedeutung sein. Die Anzahl an Probanden beschränkt sich in der vorliegenden Arbeit auf 187. Eine Ausweitung der Untersuchungen auf ein deutlich größeres Kollektiv ist daher in Planung und könnte neue Erkenntnisse offenbaren. Im Rahmen der Untersuchungen zur PARP präsentierte die Gruppe der Kehlkopfkrebspatienten eine signifikant niedrigere BLM-induzierte PARP-Aktivität als die Gruppe der gesunden Kontrollen ( $p < 0,001$ ). Somit könnte dieser Parameter als Biomarker für eine erhöhte Suszeptibilität gegenüber Kehlkopfkrebs dienen. Jedoch sollten auch diese Resultate in einer umfassenderen Studie mit einer größeren Anzahl an Probanden bestätigt werden.

Weder für das Rauchen von Tabak noch für den Konsum von Alkohol konnte im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen ein signifikanter Einfluß auf die Parameter DRC bzw. BLM-induzierte PARP-Aktivität nachgewiesen werden. Dies widerspricht Studien aus der Vergangenheit, die eine Auswirkung des Rauchverhaltens auf die DRC beschreiben. Ein dahingehender Trend konnte auch in der vorliegenden Arbeit beobachtet werden. Auch hier könnte die Untersuchung des Gesamtkollektivs der Rhein-Neckar-Larynxstudie signifikante Ergebnisse präsentieren.

Die Resultate der PARP-Untersuchungen können im Sinne einer protektiven Wirkung einer hohen induzierbaren PARP-Aktivität gegenüber der Erkrankung an Kehlkopfkrebs interpretiert werden. Eine ausgeprägte Induktion der PARP-Aktivität nach genotoxischem Streß könnte das frühe Einleiten der Apoptose ermöglichen und somit das Überleben und die mögliche tumoröse Entartung einer massiv geschädigten Zelle verhindern. Beim Vergleich der beiden Parameter DRC und BLM-induzierter PARP-Aktivität fiel eine signifikant negative Korrelation auf ( $p = 0,03$ ); dies bedeutet, daß Individuen mit einer reduzierten DRC eine besonders hohe BLM-induzierte PARP-Aktivität aufwiesen; eine hohe induzierbare PARP-Aktivität bringt also nicht unbedingt eine Verbesserung der zellulären Reparatur von DNA-Schäden mit sich. Möglicherweise reagieren entsprechende Individuen besonders massiv auf genotoxischen Streß, was zum Verlust von ATP und zum nekrotischen Zelltod führt. Hier wäre dann eine Reparatur von DNA-Schäden aufgrund des Energiemangels nicht mehr möglich. Es gibt auch Hinweise dafür, daß eine verminderte PARP-Aktivität durch Mechanismen auf der Ebene der Gentranskription zu einer erhöhten Resistenz der Zelle gegenüber DNA-schädigenden Stoffen beitragen kann. Weitere molekularbiologische Untersuchungen sollten nun folgen, die für eine Aufklärung der Zusammenhänge zwischen DRC und genotoxisch induzierter PARP-Aktivität im Detail sorgen.