

Jens Uwe Marquardt

Dr. med.

Genetische Polymorphismen in DNA-Reparaturgenen und Genen der Zellzykluskontrolle als potentielle Biomarker für die Entwicklung von akuten Nebenwirkungen während der Strahlentherapie von Prostatakarzinompatienten

Geboren am 08.12.1978 in New York

(Staats-)Examen am 21.06.2006 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: DKFZ(Deutsches Krebsforschungszentrum)

Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. Helmut Bartsch

Radiotherapie stellt eine der Säulen in der Krebstherapie dar. Die optimale therapeutische Dosis sollte dabei einen maximalen Effekt auf die Tumorzellen und minimale Auswirkungen auf das gesunde Gewebe haben. Normale Gewebereaktionen auf diese Therapie variieren allerdings von Patient zu Patient. Bislang gibt es keine verlässlichen Methoden, sensible Patienten vor der Therapie zu identifizieren. Es ist bekannt, dass genetische Faktoren diese Reaktionen zumindest teilweise beeinflussen. Die Entwicklung von Biomarkern zur Voraussage eben dieser sensiblen Patienten stellt daher eine große Forschungsaufgabe dar. Da DNA-Schäden zu den kritischen Elementen gehören, die durch die Radiotherapie ausgelöst werden, spielen Mechanismen, die zur Reparatur dieser induzierten Schäden führen, eine wesentliche Rolle. Zu diesen Mechanismen zählen die DNA-Reparatur und der Zellzyklus.

In dieser Pilotstudie, die Teil einer prospektiven molekularepidemiologischen Studie ist, wurde die Assoziation von fünf „Single-Nucleotide-Polymorphismen“ (SNP) in DNA-Reparaturgenen und zwei SNPs in Genen des Zell-Zyklus und dem Risiko von akuten Nebenwirkungen in der Strahlentherapie untersucht. Zusätzlich wurden die gleichen SNPs auf ihre funktionellen Auswirkungen auf die DNA-Reparaturkapazität (DRC) geprüft. Um die funktionellen Effekte zu charakterisieren, wurden für jede Probe vier Parameter bestimmt: der Hintergrundschaden, der induzierte Schaden, die DRC nach 15 min und die DRC nach 60 min.

Ein weiterer Schwerpunkt dieser Arbeit lag auf der Optimierung von bestehenden Genotypisierungsmethoden und der Etablierung von effizienten Genotypisierungsverfahren

für SNPs, um die Analyse von größeren Kollektiven zu vereinfachen. Aus peripheren Blutlymphozyten ist von 250 Patienten mit Prostata-Karzinom ohne Fernmetastasen, die alle mit einer Beckenbestrahlung behandelt wurden, DNA isoliert worden. Sechs verschiedene SNPs wurden mit Hilfe von sequenz-spezifischen Sonden, ein SNP mit konventioneller Restriktions-Fragment-Längen-Analyse (RFLP-Analyse) untersucht. Die Ergebnisse der zwei neu etablierten Protokollen von Genvarianten wurden zusätzlich durch DNA-Sequenzierung nach Sanger überprüft.

Die Arbeit weist folgende Ergebnisse auf:

Die Etablierung der sequenz-spezifischen Sonden zur Genotypisierung stellt eine effiziente Methode für weitere Untersuchung an Studien an großen Kollektiven dar.

Bezüglich der Entwicklung von akuten Nebenwirkungen in der Strahlentherapie konnte für keinen der untersuchten Genotypen ein signifikanter Effekt bewiesen werden. Um Strahlensensibilität vorhersagen zu können, scheint es nötig, die Fragestellung und den Untersuchungszeitraum zu erweitern und weitere Genvarianten in die Untersuchungen mit aufzunehmen.

Bei der Korrelation der Daten mit der DRC zeigte das variante Allel des *XRCC1* Arg399Gln Polymorphismus signifikant verringerte Hintergrundschäden ($P=0.021$). Für den *APE1* Asp148Glu zeigte sich, bezüglich des Hintergrundschadens, ein statistisch nahezu relevanter Trend von Wildtyp zu Varianten ($P=0.058$). Für den *XRCC2* Arg188His war dieser Trend signifikant ($P=0.002$). Für denselben SNP waren deutliche Unterschiede auch für die DRC 15 min sichtbar, allerdings war dieser Trend nicht signifikant ($P=0.168$).

Wenn man die einzelnen Genotypen betrachtet, zeigten die Varianten des *TP53* Arg72Pro in der DRC 60 min die beste Reparatur, die Wildtypen die Schlechteste. Diese Unterschiede waren ebenfalls nahezu signifikant ($P=0.053$). Die Träger des varianten Allels folgten diesem Trend für die DRC 60 min. Hier zeigten sich sogar statistisch relevante Unterschiede ($P=0.02$). Ein fast signifikanter Effekt war für die Träger ebenfalls für die DRC 15 min zu erkennen ($P=0.054$).

Da bestimmte Varianten gut mit der zellulären Reparatur korrelierten, lässt sich auf einen Zusammenhang mit der zellulären Radiosensitivität schließen. Ein deutliches Ergebnis wird jedoch von möglichen Einflussfaktoren überdeckt. Einige dieser möglichen Faktoren, wie vorangegangene Chemotherapie oder mögliche Exposition gegenüber exogenen Noxen,

konnten in dieser Arbeit bereits genannt werden. Die Identifizierung weiterer Einflussfaktoren, sowie das Schaffen eines möglichst homogenen Patientenkollektivs scheint deshalb für weitere Studien unumgänglich. Ebenso scheint es viel versprechend, die Träger der Pro/Pro Varianten im *TP53*-Gen auf ihren prädiktiven Vorhersagewertes zur zellulären Radiosensitivität auch im Weiteren zu verfolgen.

Insgesamt sollten die Patientenzahlen und somit ebenfalls die Fallzahlen erhöht werden, um u.a. mögliche zufällige Fehler zu minimieren.