

Cornelia Nicole Klappenecker
Dr. med.

Pharmakogenetische Ansätze zum Chemotherapieansprechen des Bronchialkarzinoms– Die Bedeutung von Polymorphismen der Methyltetrahydrofolatreduktase und der Uridindiphosphat–Glucuronosyltransferase 1A1

Geboren am 27.07.1979 in Schwäbisch Hall
Staatsexamen am 02.05.2007 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: DKFZ
Doktormutter: Priv.–Doz. Dr. Angela Risch

Die Diagnose eines Bronchialkarzinoms ist die häufigste Krebsdiagnose in Deutschland und wird oft in Spätstadien gestellt. Der entscheidende Therapieansatz ist dann die Chemotherapie, in der bei mittleren Überlebenszeiten von wenigen Monaten große Unterschiede im individuellen Ansprechen beobachtet werden. Die Pharmakogenetik beschäftigt sich u. a. mit der Identifikation genetischer Parameter, die vor Therapiebeginn Aussagen über die Wahrscheinlichkeit eines Therapienansprechens liefern. Ein Schlüsselenzym des Folatstoffwechsels ist die Methyltetrahydrofolatreduktase (MTHFR). Das *MTHFR* Gen weist zwei Polymorphismen auf, *MTHFR 677 C>T* und *MTHFR 1298 A>C*, deren variante Allele zu einer verminderten Enzymaktivität führen. Dies führt u.a. zur Hypomethylierung der DNA und damit zu unspezifischer Aktivierung von Genen. Das Enzym UDP–Glucuronosyltransferase (UGT) 1A1 ist an der Glucuronidierung und damit am Abbau von Etoposid beteiligt. In seinem Promotorbereich sind drei Polymorphismen beschrieben (*UGT1A1**28; *60 und *93), deren variante Allele die Transkription vermindern, was zu einer erhöhten Etoposidkonzentration intrazellulär und einem besseren Chemotherapieansprechen führen könnte. In der vorliegenden Studie wurden 349 Patienten mit primären Bronchialkarzinomen verschiedener histologischer Entitäten im Zeitraum zwischen März 1999 und November 2004 mit einer primären Chemotherapie an der Thoraxklinik in Heidelberg rekrutiert. Das Studiendesign ist beobachtend, die Therapiewahl wurde nicht beeinflusst. Die Chemotherapieansprechensrate wurde nach dem 2. Zyklus nach den Kriterien nach RECIST bestimmt. Weiterhin wurden das Datum der ersten Progression und das Todesdatum erhoben. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Polymorphismen *MTHFR 677 C>T* und *MTHFR 1298 A>C* sowie *UGT1A1**28, *60 und *93 genotypisiert. Die DNA wurde aus Blutproben isoliert und die Genotypisierung erfolgte teilweise über Sequenzierung der Proben (*UGT1A1**28), teilweise über fluoreszenzbasierte Schmelzkurvenanalyse (für alle übrigen Polymorphismen). Die Methoden zur Genotypisierung der *MTHFR* Polymorphismen waren vorbeschrieben und wurden etwas abgewandelt, für die Genotypisierung von *UGT1A1**60 und *93 wurden zwei neue PCRs mit Schmelzkurvenanalyse und zur Validierung zwei neue PCR-RFLP Analysen etabliert. Für *MTHFR* und *UGT1A1* wurden Haplotypen mit dem Programm Phase2 bestimmt. Der Einfluß von Genotypen und Haplotypen auf die Chemotherapieansprechensrate wurde mittels multipler logistischer Regression als Odds Ratio für das Risiko Nonresponder zu sein und für progressionsfreies Intervall und Überleben als Hazard Ratio nach dem Cox Regressionsmodell bestimmt. Während die varianten Allele des Polymorphismus *MTHFR 1298 A>C* in der etoposidbasierten Therapie des kleinzelligen Bronchialkarzinoms mit einer signifikant besseren Response assoziiert sind (AC/CC vs AA; OR 0,27; 95% KI 0,11-0,63), zeigen Träger varianter Allele von *MTHFR 677 C>T* eine nichtsignifikant schlechtere Response. In der Überlebensanalyse zeigen sich nichtsignifikante Tendenzen zu längerem Überleben für

Träger der varianten Allele des Polymorphismus *MTHFR 677 C>T*. Für die platinbasiert therapierten nichtkleinzelligen Bronchialkarzinome sind die varianten Allele des Polymorphismus *MTHFR 677 C>T* mit einer signifikant besseren Chemotherapieantwort assoziiert (CT/TT vs. CC; OR 0,45; 95% KI 0,21-0,93), die varianten Allele von *MTHFR 1298 A>C* hingegen mit nichtsignifikant schlechterer Chemoantwort. In der gleichen Untergruppe sind die varianten Allele des Polymorphismus *MTHFR 677 C>T* mit einem signifikant längeren Überleben assoziiert (CT/TT vs CC, HR 1,96; 95% KI 1,16–3,30). Für die untersuchten drei Polymorphismen der *UGT1A1* ergeben sich keine signifikanten Zusammenhänge.

Diese Studie ist international die erste zu dieser Fragestellung, mit Ausnahme zweier Studien zur Abhängigkeit des Überlebens nach Chemotherapie bei nichtkleinzelligen Bronchialkarzinomen von *MTHFR 677 C>T*, die zu ähnlichen Ergebnissen kommen. Auf welche Effekte die Ergebnisse dieser Arbeit zurückzuführen sind, kann aus der Arbeit selbst nicht abgeleitet werden. Es ist jedoch bekannt, dass nichtkleinzellige Bronchialkarzinome zu globaler DNA Hypomethylierung und CpG Insel Hypermethylierung neigen, was durch variante Allele von *MTHFR 677* weiter begünstigt wird. Dies würde auch erklären, warum Polymorphismen, die ein schnelles Tumorstadium begünstigen, gleichzeitig zu einer besseren Chemoantwort nach dem zweiten Zyklus und einem schlechteren Langzeitüberleben führen. Es konnte ebenfalls gezeigt werden, dass die Methylierungsschemata von Kleinzellern signifikant von denen von Nichtkleinzellern abweichen. Dies kann die andersartigen Ergebnisse der Kleinzellergruppen erklären. Die untersuchten *UGT1A1* Polymorphismen scheinen den Etoposidstoffwechsel nicht in ausreichendem Maße zu beeinflussen, um sich auf das Chemotherapieansprechen auszuwirken. Große klinische Studien zur Auswirkung genetischer Polymorphismen auf den Folatehaushalt und die DNA-Methylierung unter Chemotherapie sind zu empfehlen, um diesen Sachverhalt zu klären und ggf. einen therapeutischen Nutzen daraus ziehen zu können, sei es zur Entwicklung prognostischer Parameter oder neuer Chemotherapeutika.