

Diplomarbeit

Die Rolle von Genvarianten in Regulatoren der DNA Reparatur bei der Entwicklung von radiogenen Nebenwirkungen

eingereicht von

Eva-Maria Thurner

Matrikelnummer: 0433546

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Universitätsklinik für Strahlentherapie

unter der Anleitung von

Priv. Doz. Dr. Langsenlehner Tanja

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides Statt, dass die vorliegende Diplomarbeit mit dem Thema

"Die Rolle von Genvarianten in Regulatoren der DNA Reparatur bei der Entwicklung von radiogenen Nebenwirkungen"

von mir selbständig verfasst wurde und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel verwendet wurden.

Graz, den 2. Mai 2010

Inhalt

Zusammenfassung	x
Abstract	xii
Abbildungsverzeichnis	xiv
Tabellenverzeichnis	xv
Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen	xvi
1 Einleitung	2
1.1 <i>Grundlegende Überlegungen</i>	2
1.1.1 Prostatakarzinom	3
1.1.1.1 Epidemiologie	3
1.1.1.2 Ätiologie	6
1.1.1.3 Klassifikation und Stadieneinteilung	7
1.1.1.4 Klinik, Diagnostik und Verlauf	7
1.1.1.5 Therapie	8
1.1.1.5.1 Abwarten und Beobachten	8
1.1.1.5.2 Radikale Prostatektomie	9
1.1.1.5.3 Strahlentherapie	10
1.1.1.5.4 Antiandrogene Therapie	11
1.1.1.5.5 Chemotherapie	11
1.2 <i>Radioonkologie</i>	13
1.2.1 Die Bedeutung der Strahlentherapie in der Onkologie	13
1.2.2 Radiotherapie als Therapieoption beim Prostatakarzinom	13
1.2.2.1 Zielvolumina und Bestrahlungstechnik	14
1.2.2.2 Frühe Tumorstadien	15
1.2.2.3 Lokal fortgeschrittene Tumorstadien	15
1.2.2.4 Additive Radiotherapie	15
1.2.2.5 Radiotherapie in Kombination mit antiandrogener Therapie	15
1.2.2.6 Radiotherapie beim Auftreten eines Rezidivs	16
1.2.2.7 Palliative Bestrahlung	16
1.2.3 Folgen der Radiotherapie	16
1.2.3.1 Akute und chronische Nebenwirkungen der Strahlentherapie	17
1.2.3.1.1 Akute Nebenwirkungen	17
1.2.3.1.1.1 Pathogenese akuter Strahlenfolgen	18
1.2.3.1.1.2 Chronische Nebenwirkungen	18
1.2.3.1.1.2.1 Pathogenese chronischer Strahlenfolgen	19
1.3 <i>Strahlenschäden an der DNA und deren Reparatur als Grundlage für Strahlenfolgen</i>	21
1.3.1 Endogene und exogene Auslöser von DNA-Schäden und infolge eingeleitete Reparaturmechanismen	21
1.3.2 Strahlentherapie und ihre Wirkung auf die DNA	22
1.3.2.1 Verschiedene Möglichkeiten für die Reparatur von Schäden an der DNA	23
1.3.2.1.1 Ausgewählte Reparaturmechanismen	24
1.3.2.1.1.1 Nukleotidexzisionsreparatur (NER)	24
1.3.2.1.1.2 Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen	28

1.4	<i>Genetische Varianten als mögliche Ursachen für Unterschiede in der individuellen Strahlenempfindlichkeit</i>	30
1.4.1	SNPs - Single Nucleotide Polymorphisms in DNA-Reparaturgenen	30
1.4.2	Die Rolle von SNPs in DNA-Reparaturgenen für die Entstehung von höhergradigen radiogenen Strahlenfolgen - Grundlegende Überlegungen	31
2	Methoden	34
2.1	<i>Eingangsphase</i>	34
2.2	<i>Literaturrecherche</i>	34
2.3	<i>Zum Aufbau und zur Durchführung der Studie</i>	35
2.3.1	Studienteilnehmer	35
2.3.2	Kriterien	35
2.3.3	Datenerhebung	36
2.3.4	Details zur Bestrahlungstechnik	36
2.3.5	Informationen bezüglich der Radiotoxizität	37
2.3.6	Ergebnisse von Follow-up Untersuchungen	38
2.3.7	Isolation der genomischen DNA	38
2.3.8	Bestimmung der Einzelnukleotidpolymorphismen	38
2.3.9	Statistische Methoden	39
3	Ergebnisse	40
3.1	<i>Statistische Auswertung</i>	40
4	Diskussion	42
4.1	<i>Polymorphismen in DNA-Reparaturgenen und ihr Einfluss die Entwicklung radiogener Effekte in der Radioonkologie</i>	42
4.1.1	Aufarbeitung ausgesuchter Artikel	42
4.1.1.1	Gene-Pare Project (Ho et al.)	43
4.1.1.2	Assoziation zwischen Polymorphismen in DNA-Reparaturgenen wie XRCC1 und der Ausbildung von Strahlenspätfolgen in der Therapie von Mammakarzinompatientinnen (Chang-Claude et al.)	43
4.1.1.3	Polymorphismen in ERCC2 (Benhamou et al.)	44
4.1.1.4	Vermutete Zusammenhänge zwischen SNPs oder Apoptoseraten von Lymphozyten und der Entwicklung schwerer radiogener Nebenwirkungen (Azria et al.)	45
4.1.1.5	ERCC2 - Polymorphismen und ihre Auswirkungen auf die Qualität der DNA-Reparatur (Lunn et al.)	46
4.1.1.6	Komplexes Zusammenwirken verschiedener Genvarianten und die daraus resultierende Radiosensitivität bei Prostatakarzinompatienten (Pugh et al.)	46
4.1.1.7	Identifizierung von Risikogruppen in der Strahlentherapie anhand der Genotypisierung in Kombination mit dem G2 Assay (De Ruyck et al.)	47
4.1.1.8	Ergebnisse bezüglich der Polymorphismen in den Genen XRCC1 und XRCC3 und dem Auftreten von radiogenen Nebenwirkungen (Andreassen et al.)	49
4.1.1.9	Polymorphismen des XRCC1 Gens und die Auswirkungen auf die Radiosensitivität von Mammakarzinompatientinnen (Moullan et al.)	49
4.1.1.10	Die verabreichte Dosis im Zuge der Karzinombestrahlung in Assoziation mit genetischen Polymorphismen in DNA-Reparaturgenen als maßgebende Faktoren bei der Entwicklung von Strahlenschäden (Werbrouck et al.)	50

4.1.1.11	SNPs als Marker für ein potentielles Risiko für die Entwicklung von schweren Strahlenspätchäden im Rahmen einer Radiatio beim Prostatakarzinom (Damaraju et al.)	51
4.1.1.12	Korrelation von SNPs in den Genen XRCC1 und TGFβ1 mit erhöhtem Risiko für Spätkomplikationen infolge einer Radiatio bei Mammakarzinompatientinnen (Giotopoulos et al.)	52
4.1.1.13	Analyse möglicher Zusammenhänge von SNPs in DNA-Reparaturgenen und dem Risiko für akute Strahlenschäden (Popanda et al.)	53
4.1.1.14	Relation zwischen SNPs und der Entwicklung von subkutaner Fibrose infolge einer primären Bestrahlung nach Mastektomie (Andreassen et al.)	53
4.1.1.15	Signifikante Ergebnisse hinsichtlich Untersuchungen ausgewählter SNPs in SOD2, XRCC1 und XRCC3 und dem Risiko für therapiebedingte, späte radiogene Nebenwirkungen bei Patienten mit einem Adenokarzinom der Prostata (Burri et al.)	53
4.1.1.16	Relevanz bestimmter Genotypen für das Auftreten von später Toxizität nach einer Radiatio bei Mammakarzinompatientinnen (Chang-Claude et al.)	54
4.1.1.17	Untersuchung der DNA-Reparaturkapazität und der Nebenwirkungen der Radiotherapie bei Mammakarzinompatientinnen (Sterpone et al.)	54
5	Schlussfolgerung	58
6	Referenzen	59

Zusammenfassung

Der erste Teil der Arbeit widmet sich allgemeinen Informationen über das Prostatakarzinom und den möglichen Therapieoptionen, die sich bei der Diagnose eines Prostatakarzinoms anbieten. Im weiteren Verlauf wird genauer auf die Möglichkeit der Strahlentherapie und die mit ihr einhergehenden Nebenwirkungen eingegangen. Schließlich werden die verschiedenen Wege der DNA-Reparatur erläutert, da diese eine zentrale Rolle in der Behebung von Schäden, die durch ionisierende Strahlung verursacht werden, einnehmen. Ebenso zählen Einzelnukleotidpolymorphismen in DNA-Reparaturgenen zur behandelten Thematik, da man vermutet, dass solche SNPs einen entscheidenden Einfluss auf das Risiko, Strahlenschäden zu entwickeln, ausüben.

Aus zahlreichen Forschungsarbeiten geht hervor, dass bei Karzinompatienten, die eine Strahlentherapie erhalten, eine ungemeine Heterogenität hinsichtlich der auftretenden Nebenwirkungen zu verzeichnen ist, was einerseits auf therapeutische Eigenheiten der Bestrahlung selbst oder auf patientenspezifische Eigenschaften, die jeder einzelne Patient mit sich bringt, wie Begleiterkrankungen, zusätzliche medikamentöse Therapien, Chemotherapie oder Operationen, zurückzuführen ist. Andererseits sind es aber auch determinierte intrinsische Gegebenheiten wie zelluläre Prozesse, die es ermöglichen, die durch die ionisierende Strahlung hervorgerufenen Schäden an der DNA zu detektieren und weitere Mechanismen der Reparatur einzuleiten, um die Funktionalität des betroffenen Genabschnittes weiterhin zu gewährleisten. Es kann daher angenommen werden, dass Polymorphismen in Genen, die für DNA Reparaturproteine codieren, Einfluss auf die Effizienz der DNA-Reparatur und somit auch auf die individuelle Strahlenempfindlichkeit nehmen.

Das Hauptaugenmerk in der folgenden Arbeit wird auf Einzelnukleotidpolymorphismen in den Genen ERCC2, XRCC1 und XRCC3 gerichtet, um Vermutungen zu bestätigen, dass diese Einfluss auf die Entwicklung von chronischen Nebenwirkungen im Rahmen einer Strahlentherapie bei Prostatakarzinompatienten ausüben.

Um die Rolle von Polymorphismen in DNA Reparaturgenen für die Entwicklung von schweren, späten Nebenwirkungen infolge einer Radiotherapie zu analysieren wurden 603 Teilnehmer der Austrian PROCAGENE Study in die aktuelle Studie eingeschlossen. Alle Patienten erhielten eine 3-dimensionale konformale Radiotherapie. Die urogenitale und gastrointestinale Toxizität wurde entsprechend den standardisierten RTOG Kriterien gewertet. Sechs funktionelle Polymorphismen in XRCC1 (Arg194Trp, Arg280His, Arg399Gln), XRCC3 (Thr241Met) and ERCC2 (Asp312Asn, Lys751Gln) wurden für die Analysen ausgewählt und anhand des 5'-Nuclease (TaqMan) Assays erfolgte die Genotypisierung. Die statistischen Analysen wurden unter Verwendung des SSPS 16.0 für Windows durchgeführt.

91 Patienten (15,7%) entwickelten späte urogenitale und/oder gastrointestinale Nebenwirkungen RTOG ≥ 2 , wobei die Kontrolluntersuchung im Median nach 35 Monaten stattgefunden hat. In der Kaplan-Meier Analyse zeigte sich, dass Träger des XRCC1 280His Allels ein vermindertes Risiko für die Entwicklung von später Toxizität RTOG ≥ 2 ($p=0,22$) aufweisen. Das univariate Cox-Regressionsmodell ergab für den Polymorphismus XRCC1 280His ein relatives Risiko von 0,28 (95% KI 0,09-0,9; $p=0,032$) für die Entwicklung von späten Nebenwirkungen RTOG ≥ 2 , in einem multivariatem Cox-Regressionsmodell war das Tragen des

XRCC1 280His Allels mit einem relativen Risiko von 0,27 (95% KI 0.09 - 0.86; $p = 0.025$) assoziiert. Für die übrigen untersuchten Polymorphismen konnten keine signifikanten Zusammenhänge gefunden werden.

Die Identifikation von SNPs in DNA Reparaturgenen, welche das individuelle Radiotherapieansprechen beeinflussen, wird dazu beitragen, die Strahlentherapie im Sinne einer maßgeschneiderten Radiotherapie zu optimieren und damit eine Minimierung einer höhergradigen Toxizität, eine Verbesserung der Tumorkontrolle sowie eine Steigerung der Lebensqualität von Krebspatienten zu bewirken.

Abstract

The first part of this work will focus on general information about prostate cancer and the possible options of therapy, if prostate cancer is diagnosed. In addition, radiotherapy as treatment modality for prostate cancer will be discussed and subsequently the development of side effects after radiation therapy. Finally, different ways of DNA repair that play a key role in the repair of radiation - induced DNA damage will be illustrated -furthermore, single nucleotide polymorphisms are a part of the theme, assuming that they may influence the risk of radiation induced damage.

In several scientific articles , an extraordinary heterogeneity in the development of severe side effects in prostate cancer patients treated with radiotherapy has been reported. This heterogeneity may result from therapeutic features itself, but also from specific characteristics each patient brings along, for example accompanying illnesses, concurrent medication, chemotherapy or surgeries. On the other hand there are determined intrinsic properties like cellular procedures, which allow the detecting of DNA lesions and initiate further mechanisms of DNA repair to warrant the functionality of the concerned gene region.

Single nucleotide polymorphisms in genes that are responsible for DNA repair mechanisms may influence DNA repair capacity and therefore individual radiosensitivity and the risk of developing radiation- induced side effects.

The aim of the present study is to investigate the association between single nucleotide polymorphisms in ERCC2, XRCC1 and XRCC3 and late side effects in prostate cancer patients treated with radiotherapy to identify patients who have genetic predisposition to develop severe late side effects.

To analyze the role of polymorphisms in DNA repair genes for late toxicity 603 participants from the Austrian PROCAGENE study were included in the present investigation. All patients underwent three-dimensional conformal radiotherapy. Genitourinary and gastrointestinal toxicity was graded according to standard RTOG criteria. Six functional candidate polymorphisms in XRCC1 (Arg194Trp, Arg280His, Arg399Gln), XRCC3 (Thr241Met) and ERCC2 (Asp312Asn, Lys751Gln) were selected for analysis and determined by 5'-nuclease (TaqMan) assays. Statistic analysis was done using SPSS 16.0 for Windows.

Within a median follow-up time of 35 months, 91 patients (15.7%) developed genitourinary and/or gastrointestinal late toxicity RTOG ≥ 2 . In a Kaplan–Meier analysis, carriers of a XRCC1 280His allele were at decreased risk of late toxicity grade ≥ 2 ($p = 0.022$). In an univariate Cox regression model, the relative risk of carriers of a XRCC1 280His allele for late toxicity ≥ 2 was 0.28 (95% CI 0.09 - 0.90; $p = 0.032$), in a multivariate Cox regression model carriage of a XRCC1 280His allele was associated with a relative risk of 0.27 (95% CI 0.09 - 0.86; $p = 0.025$). No significant associations were found for the remaining polymorphisms.

The identification of sequence variants in DNA repair genes influencing the individual response to radiotherapy will contribute to an individualization of radiotherapy and enable physicians to optimize radiotherapy thereby minimizing radiation-induced toxicity, improv-

ing tumor control and the efficacy of radiation treatment and increasing the quality of life of cancer patients.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1-1: Der zeitliche Verlauf sowohl der Neuerkrankungen als auch der Sterblichkeit des Prostatakarzinoms in Österreich ab 1983 (Daten nach Statistik Austria [3]).	3
Abbildung 1-2: Das Diagramm veranschaulicht die führende Rolle des Prostatakarzinoms und zeigt jeweils den prozentualen Anteil ausgewählter Tumorlokalisationen an allen Krebssterbefällen und Krebsneuerkrankungen in Deutschland (Daten nach [5]).	4
Abbildung 1-3: Vergleichend angeführt sind Inzidenz und Mortalität aller Bundesländer Österreichs in den absoluten Zahlen im Jahresdurchschnitt 2004/2006 (Daten nach Statistik Austria [3]).	5
Abbildung 1-4: Graphisch dargestellt sind die kumulativen Raten der Inzidenz sowie der Mortalität des Prostatakarzinoms. Die Balken stellen jeweils den Prozentsatz der auftretenden Inzidenz/Mortalität bis zum 75. Lebensjahr dar (Daten nach Statistik Austria [3]).	5
Abbildung 1-5: Die Inzidenz des Prostatakarzinoms nach Stadium wird anhand der Abbildung verdeutlicht. Die Zahlen stammen aus dem Jahresdurchschnitt 2004/2006 (Daten nach Statistik Austria [3]).	6
Abbildung 1-6: Prostatakarzinom - Oben: Pelvine Lymphadenektomie. Mitte: Präparation der Harnröhre. Unten: Prostata mit Samenblasen und Samenleitern [11].	9
Abbildung 1-7: Tumorkonforme Anpassung der räumlichen Dosisverteilung wird durch integrierte Lamellenblenden (Multi-Leaf-Collimator), die sich im Strahlerkopf des Linearbeschleunigers befinden, ermöglicht [12].	10
Abbildung 1-9: Der Linearbeschleuniger erzeugt negativ geladene Teilchen für oberflächliche Herde und ultraharte Röntgenstrahlen für tiefliegende Tumore [12].	13
Abbildung 1-8: Computerunterstützte Therapieplanung beim Prostatakarzinom [12].	13
Abbildung 1-10: dreidimensionale konformale Planung der Bestrahlung eines Prostatakarzinoms [12].	14
Abbildung 1-11: Täglich in einer Zelle anfallende DNA-Schäden, die infolge von externen oder internen Faktoren ausgelöst werden und welche verschiedene Reparatursysteme in Anspruch nehmen (Daten nach [22]).	22
Abbildung 1-12: Die im TFIIH-Komplex integrierten Proteine [27].	26
Abbildung 1-13: Bildliche Darstellung der Funktionen des ERCC2 und möglicher Syndrome bei Mutation desselben (Abbildung nach [25]).	27
Abbildung 1-14: Ablauf des NHEJ [28].	28
Abbildung 1-15: Reparaturmechanismen infolge eines Doppelstrangbruchs der DNA (Abbildung nach [29]).	29
Abbildung 2-1: Aufgelistet sind Beispiele der Schlagwörter die zur Literatursuche in der Suchmaschine des Web of Science dienen.	35
Abbildung 2-2: CT basierte Planung einer dreidimensionalen konformalen Bestrahlung. Das Bestrahlungszielvolumen beinhaltet die Prostata und die angrenzenden Samenblasenanteile mit einem Sicherheitssaum von 1cm, die Rektumvorderwand liegt im Hochdosisbereich [12].	36
Abbildung 3-1: XRCC1 Arg280His Polymorphismus und die grafische Darstellung der Entwicklung von späten urogenitalen und/oder gastrointestinalen Nebenwirkungen mit einem RTOG Grad ≥ 2 , die bei den Kontrolluntersuchungen beobachtet werden konnten. Der blaue Kurvenverlauf im Diagramm beinhaltet die Patienten mit dem Wildtypallel Arg/Arg, die grüne diejenigen mit dem Polymorphismus XRCC1 Arg280His. Klar ersichtlich ist in dieser Abbildung ein deutliches Ansteigen der Kurve mit dem Fortschreiten der postradiogenen Zeitspanne für das homozygote Allel, nicht jedoch für den Polymorphismus Arg/His.	41
Abbildung 4-1: In der Abbildung sind die 6 bekannten SNPs des ERCC2 Proteins aufgezeigt. Nämlich C→A am Codon 156, C→G am Codon 199, C→T im Codon 201, G→A im Codon 312, C→T im Codon 711 und A→C im Codon 751[25].	44
Abbildung 4-2: Ersichtlich ist der Zusammenhang zwischen der Anzahl der SNPs und der Wahrscheinlichkeit für die Entwicklung von Strahlenschäden(Daten nach [37]).	45
Abbildung 4-3: Zu sehen ist der im G2 Assay, auch Micronucleus Assay, dargestellte Chromosomenbruch [40].	48

Abbildung 4-4: Die Balken zeigen einen Vergleich der DNA-Strangbrüche von Mammakarzinompatientinnen und einer Kontrollgruppe, wobei ein basaler Wert und weitere drei Werte, welche im Rahmen einer Bestrahlung beobachtet und anschließend dokumentiert wurden. [51]. 55

Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1-1: Tabellarisch aufgelistet sind die maßgebenden klinischen und diagnostischen Parameter für die Einteilung der Patienten in die entsprechenden Risikogruppen und die daraus resultierende Wahl der Bestrahlungsdosis.</i>	8
<i>Tabelle 1-2: XRCC1 und seine Funktionen und Aufgabenbereiche [24].</i>	24
<i>Tabelle 1-3: Die Tabelle führt einige Funktionen und Prozesse an, für die ERCC2 von essentieller Bedeutung ist [26].</i>	25
<i>Tabelle 1-4: XRCC3 - Funktionen und Prozesse in die das XRCC3 involviert ist [30].</i>	30
<i>Tabelle 2-1: Tabellarische Darstellung einzelner Parameter entsprechend der Datenerhebung im Rahmen der Studie.</i>	36
<i>Tabelle 2-2: Ausschnitt des RTOG-Scoring System zur Beurteilung des Schweregrades der Nebenwirkungen infolge einer Radiotherapie [35].</i>	37
<i>Tabelle 3-1: Die im Rahmen der Studie untersuchten Polymorphismen, die bei den follow-up Untersuchungen beurteilte und anschließend dokumentierte Toxizität und die mittels χ^2-Test ausgewertete statistische Signifikanz der einzelnen SNPs sind in der Tabelle angeführt.</i>	40
<i>Tabelle 4-1: Ausschnitt identifizierter Genvarianten (Daten nach [34]).</i>	42
<i>Tabelle 4-2: Die Tabelle enthält einen Ausschnitt der untersuchten Gene und deren Polymorphismen und eine Zuordnung in die Gruppe mit niedriger oder hoher Toxizität (Abkürzungen: A=reference allele; B=non reference allele(Tabelle nach [39])).</i>	47
<i>Tabelle 4-3: Dargestellt sind eine Auswahl der auf SNPs analysierten Gene der Studie (Tabelle nach [45]).</i>	51

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

5'UTR	5'untranslated region
A	Adenin
AGT	O6-Alkylguanintransferase
Ala	Alanin
ANOVA	analysis of variance = univariate Varianzanalyse
APE-1	apurinic/apyrimidinic endonuclease 1
APEX(1)	DNA-apurinic or apyrimidinic site nuclease
Arg	Arginin
Asn	Asparaginsäure
Asp	Asparagin
AT	Ataxia-Telangiectasia
ATM	Ataxia-Telangiectasia mutete
ATP	Adenosintriphosphat
BCL2	B-Cell Lymphom 2
BMI	Body-Mass-Index
BRCA1/2	Breast cancer 1/2
C	Cytosin
CAK	Cdk-aktivierender Kinasekomplex
CD8	Cluster of differentiation 8 (transmembranes Glykoprotein)
Cdk7	Serin/Threonin Kinase
CS	Cockayne Syndrom
CT	Computertomographie
CX3CR1	Chemokine (C-X3-C motif) receptor 1
Cyc H	Zyklin H
CYP	Cytochrom
Cys	Cystein
DCRT	three-dimensional conformal radiotherapie
DHFR	Dehydrofolatreduktase
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DNA-PKcs	DNA-Proteinkinasen
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure/Ethylendiamintetraacetat
ERCC	Excision Repair Cross-Complementing Rodent Repair Deficiency
FEN1	Flap removal Nukleasen
G	Guanin
GGR	Global Genomic Repair
Gln	Glutamin
Glu	Glutaminsäure
GTF2H2	General transcription factor IIH
Gy	Gray
H2AFX	H2A histone family, member X
HDR-Brachytherapie	High-dose-rate-Brachytherapie
hHR23A	human homologue of rad21
His	Histidin
HR	Homologe Rekombination
Hyl1	Hyponastic Leaves 1 (double-stranded RNA binding/protein binding)

IL	Interleukin
Ile	Isoleucin
IMRT	intensity-modulated radiotherapy
KI	Konfidenzintervall
LH-RH-Agonist	Luteinisierungs-Hormon-Releasing-Hormon (=GnRH-Agonist)
LIG3	ATP-dependent DNA ligase III
LIG4	Ligase IV (DNA, ATP-dependent)
Lys	Lysin
MAT1	=MBD4= Methyl-CpG binding domain protein 4
MDC1	Mediator of DNA damage checkpoint 1
Met	Methionin
MLH1	Missmatch-repair Gen
MRE11A	Meiotic recombination (<i>S. cerevisiae</i>) 11 homolog A
MSH6	Missmatch-repair Gen
NBS1	Nijmegen breakage syndrome 1 (Mre11 complex subunit Nbs1)
NER	Nukleotidexzisionsreparatur
NHEJ	non-homologous-end-joining
NOS	Stickoxidsynthetase
OGG1	8-oxoguanine glycosylase
OR	Odds ratio
P21	Protein21 (=CDK-Inhibitor1/Inhibitor cyclin-abhängiger Kinasen)
p34	Protein34
p44	Protein44
p52	Protein52
p62	Protein62
PARP	Poly [ADP-ribose] polymerase
PCNA	Proliferating Cell Nuclear Antigen
PCR	Restriction Length Fragment Polymorphism Analysis
PIN3	PIN-FORMED 3/ auxin: hydrogen symporter/transporter
Polb	DNA directed Polymerase beta
Pro	Prolin
PROCAGENE	Austrian Prostate Cancer Genetics Study Group
PSA	Prostata-spezifisches Antigen
RAD50	RAD50 (<i>S. cerevisiae</i>) homolog
RAD51	Rad51 (<i>S. cerevisiae</i>) homolog
RAD52	RAD52 (<i>S. cerevisiae</i>) homolog
RPA1/2/3	Replication Protein A1/2/3
RTOG	Radiation Therapy Oncology Group
SDSA	Synthesis-Dependent Strand Annealing
Ser	Serin
SNP	Single nucleotid polymorphism
SOD2	Superoxiddismutase 2
SPSS	Superior Performing Software System
SSA	Single-Strand Annealing
T	Thymin
TCR	Transcription-Coupled Repair
TD	Toleranzdosis
TE-Puffer	T ₁₀ E ₁ -Puffer... Tris(hydroxymethyl)aminomethan und EDTA (10:1)

Tfb5	=GTF2H5; General transcription factor IIH, polypeptide 5
TFIIH-Komplex	Transkriptionsfaktor-IIH
TGF- β	Transforming growth factor beta
Thr	Thyrosin
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
TNM	Classification of Malignant Tumours/TNM staging system T...Tumor, Beschreibung von Ausdehnung und Verhalten des Primärtumors N...Nodes=Lymphknoten, Fehlen bzw. Vorhandensein von regionären Lymphknotenmetastasen M...Metastasis, Fehlen bzw. Vorhandensein von Fernmetastasen
TP53	Tumorprotein53
Trp	Tryptophan
TTD	Trichothiodystrophie
TURP	transurethrale Resektion der Prostata
Val	Valin
WHO	World Health Organization
XP	Xeroderma Pigmentosum
XPB	Trichothiodystrophy Xeroderma Pigmentosum, Group B (=ERCC3)
XPC	Xeroderma Pigmentosum, Group C (=XPCC)
XPD	Trichothiodystrophy Xeroderma Pigmentosum, Group D (=ERCC2)
XPF	Trichothiodystrophy Xeroderma Pigmentosum, Group F (=ERCC4)
XPG	Trichothiodystrophy Xeroderma Pigmentosum, Group G (=ERCC5)
XRCC	X-Ray Repair Complementing Defective Repair in Chinese Hamster Cells
ZMF	Zentrum für Medizinische Forschung

1 Einleitung

1.1 Grundlegende Überlegungen

Die Entdeckung der Röntgenstrahlen erfolgte durch Wilhelm Konrad Röntgen im Jahr 1895, wodurch nicht nur neue diagnostische, sondern auch therapeutische Möglichkeiten in der Medizin entstanden sind. In den letzten Jahrzehnten gewann die Strahlentherapie besonders in der Onkologie an außerordentlicher Bedeutung und man musste sich mit ihren spezifischen auch negativen Auswirkungen auf den menschlichen Körper, die sie mit sich bringt, genauer befassen. Durch die Einwirkung ionisierender Strahlung kommt es zur Entwicklung vielfältiger Nebenwirkungen, welche in der Orthovolt-Ära, in der es zum Einsatz von hohen Strahlendosen kam, in besonders ausgeprägtem Ausmaß zu beobachten waren. Diese schwerwiegenden Nebenwirkungen sind unter anderem dafür verantwortlich, dass die Meinung über die Strahlentherapie bei so vielen onkologischen Patienten von Vorurteilen behaftet ist. Heutzutage versucht man beim Einsatz der ionisierenden Strahlung in der Onkologie ein ausgewogenes Verhältnis zwischen der notwendigen, aber zellzerstörenden Strahlendosis und den unvermeidbaren Nebenwirkungen, die man versucht so gering wie möglich zu halten, zu finden. In der applizierbaren Strahlendosis ist man wie erwähnt durch die Möglichkeit des Auftretens von schweren Nebenwirkungen limitiert, welche durch unterschiedlichste Faktoren beeinflusst werden können. Zu den einflussnehmenden Parametern in der Entwicklung von akuten oder auch chronischen Nebenwirkungen gehören das gewählte Therapieschema und im speziellen Fall der Radiotherapie die tatsächlich applizierte Dosis in Abhängigkeit von den verwendeten Bestrahlungstechniken, die Gesamt- und tägliche Einzeldosis, ob hypo- oder hyperfraktioniert, aber auch die Gesamtbehandlungszeit und es wird auch dem sogenannten Volumeneffekt eine Bedeutung angemessen. Letzterer besagt, dass die Bestrahlung mit derselben Dosis bei einem kleineren Areal geringere Nebenwirkungen nach sich zieht als bei einem größeren. In der Nebenwirkungsentwicklung sind ebenso exogene Reize wie mechanische Belastung, Hitze, Kälte, mangelhafte Hygiene oder begleitende Chemotherapie und diverse bestehende Grunderkrankungen der onkologischen Patienten wie Diabetes mellitus, Hypertonie, Autoimmunerkrankungen oder auch Entzündungen im bestrahlten Gebiet zu berücksichtigen [1]. Vor Beginn jeglicher Therapie wird eine sorgfältige Bestrahlungsplanung durchgeführt, um im Besonderen das Volumen des zu bestrahlenden Areals möglichst gering zu halten. Aber auch bestimmte Genvarianten wurden identifiziert, die mit einer erhöhten Radiosensibilität in Zusammenhang stehen. Jeder Mediziner wird daher mit der Zielsetzung konfrontiert, diejenigen Risikopatienten herauszufiltern, um infolgedessen jedem einzelnen eine bestmögliche, individuelle und akzeptable Therapie angeeignet zu lassen. Das Anliegen liegt nun darin, geeignete und klinisch anwendbare Testmethoden zu entwickeln, die eine solche Identifizierung von einflussnehmenden Polymorphismen ermöglichen, um bereits in der Therapieplanung die Informationen über das individuelle Risikoprofil einfließen zu lassen.

1.1.1 Prostatakarzinom

1.1.1.1 Epidemiologie

Das Prostatakarzinom ist der häufigste Tumor des Mannes, aber auch die zweithäufigste Todesursache maligner Genese gleich nach dem Bronchialkarzinom [2]. Die enorme gesundheitspolitische Bedeutung des Prostatakarzinoms wird durch das Auftreten von rund 240.000 Neuerkrankungen pro Jahr in Europa, aber auch durch einen stetigen Anstieg der jährlichen Neuerkrankungsrate verdeutlicht.

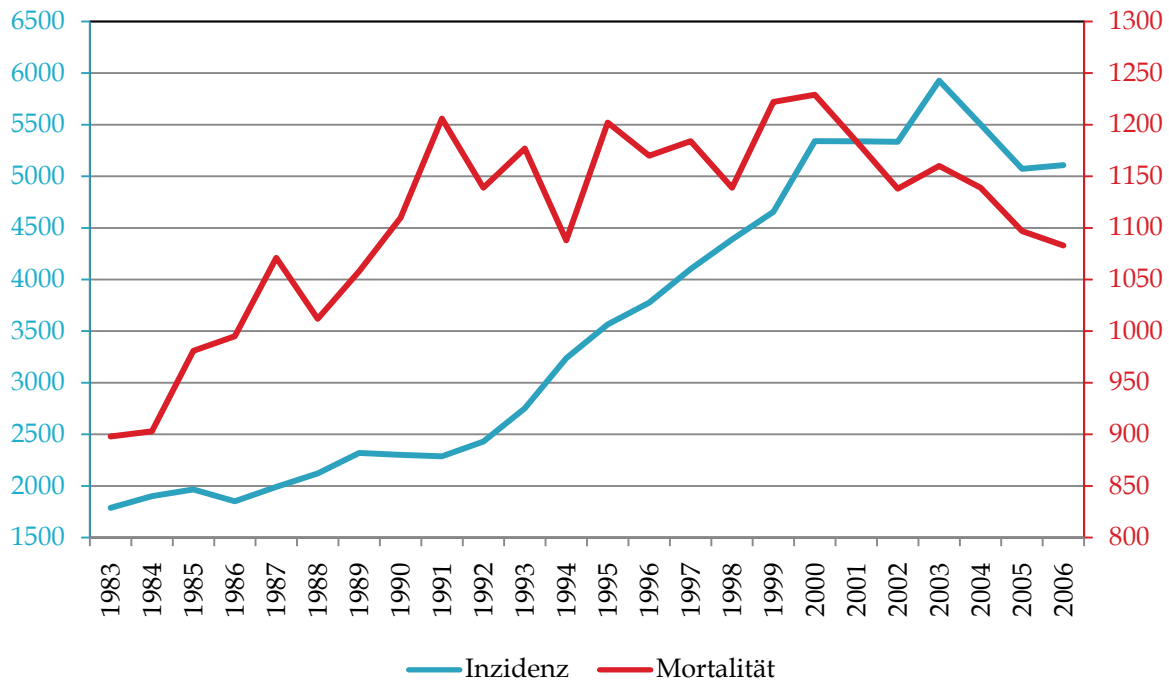


Abbildung 1-1: Der zeitliche Verlauf sowohl der Neuerkrankungen als auch der Sterblichkeit des Prostatakarzinoms in Österreich ab 1983 (Daten nach Statistik Austria [3]).

In Österreich zeigen statistische Daten ein stetes Zunehmen der Inzidenz des Prostatakarzinoms, wobei laut der obigen Grafik 1986 lediglich 1.852 Fälle, 1998 hingegen bereits 3.776 registriert wurden. Es ist zu bemerken, dass die Zunahme der Inzidenz nicht, wie fälschlicherweise angenommen werden könnte, allein auf die höhere Lebenserwartung der Bevölkerung zurückzuführen ist. Dies kann durch eine altersbereinigte Rate, die ebenfalls einen Anstieg verzeichnet, gezeigt werden [3].

Dem zunehmend steigenden demographischen Altersdurchschnitt wird im Hinblick auf die Wahrscheinlichkeit für die Entwicklung einer malignen Tumorerkrankung der Prostata eine beachtliche Bedeutung zugeschrieben. Somit nimmt das Prostatakarzinom jenseits des 65. Lebensjahres den Platz des häufigsten urologischen Tumors mit einem Lebenszeitrisko von etwa 15% ein, wobei die Inzidenz mit zunehmendem Alter ansteigt. Die Diagnose eines Prostatakarzinoms ist vor dem 45. Lebensjahr als sehr unwahrscheinlich anzusehen und das mittlere Erkrankungsalter ist um das 70. Lebensjahr anzusetzen.

In Deutschland werden etwa 40 000 neue Fälle pro Jahr diagnostiziert, das ist eine Inzidenz von 30, die jährlich in etwa 2-3% ansteigt, in China und Japan hingegen liegt die Neuerkran-

kungsrates zwischen 1,3 und 3,4 pro Jahr pro 100 000 Einwohner, was die geographisch differierenden Inzidenzen verdeutlicht [4].

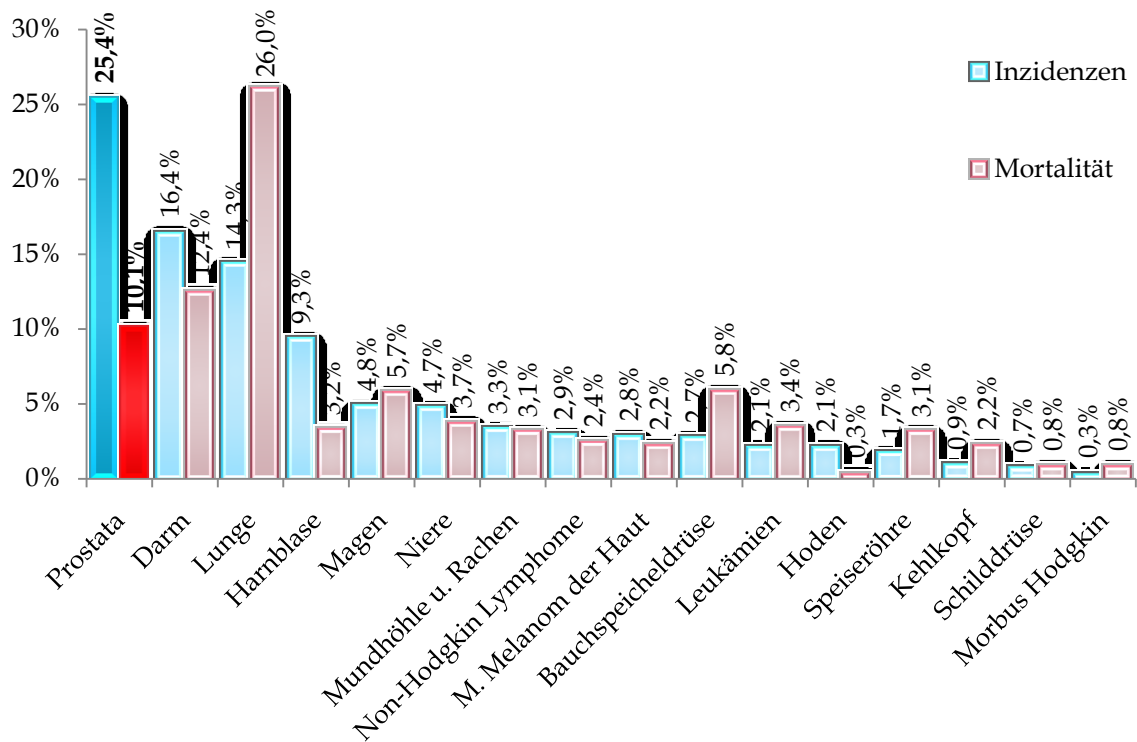


Abbildung 1-2: Das Diagramm veranschaulicht die führende Rolle des Prostatakarzinoms und zeigt jeweils den prozentualen Anteil ausgewählter Tumorlokalisationen an allen Krebssterbefällen und Krebsneuerkrankungen in Deutschland (Daten nach [5]).

Ein starker Anstieg der Erkrankungshäufigkeit ist etwa ab dem 55. Lebensjahr sichtbar, bei ca. 250 von 100.000 Männern zwischen 55 und 65 Jahren wird ein Prostatakarzinom diagnostiziert. In höheren Altersgruppen spricht man von 600 bis 700 Männern je 100.000.

Während 1996 etwa acht von hundert Männern vor dem 75. Lebensjahr an Prostatakrebs erkrankten, waren es 2006 zehn. Die Zunahme der diagnostizierten Prostatakarzinome um 88% innerhalb der letzten 10 Jahre wird besonders auf gewissenhafte Vorsorgeuntersuchungen, die verbreitete Verwendung von PSA-Tests als Screeningmethode und die Einsatzmöglichkeit von Tumormarkern zurückgeführt. Diese Maßnahmen dürften für einen Großteil der Zunahme verantwortlich gemacht werden, da man keinen auffallenden Anstieg der Sterblichkeit in der Statistik feststellen kann. Das altersbereinigte Sterberisiko bis zum 75. Lebensjahr sank in den vergangenen 10 Jahren von 1,3% auf 0,9%. Jährlich kann man wie bereits erwähnt einen Anstieg der Inzidenzraten des Prostatakarzinoms beobachten, was die immense Bedeutung desselben im medizinischen Alltag unterstreicht. In Österreich liegt die jährliche Inzidenzrate des Prostatakarzinoms bei über 5.100 und mit einem Anteil von 25% zählt sie zu den häufigsten Krebserkrankungen des Mannes [3].

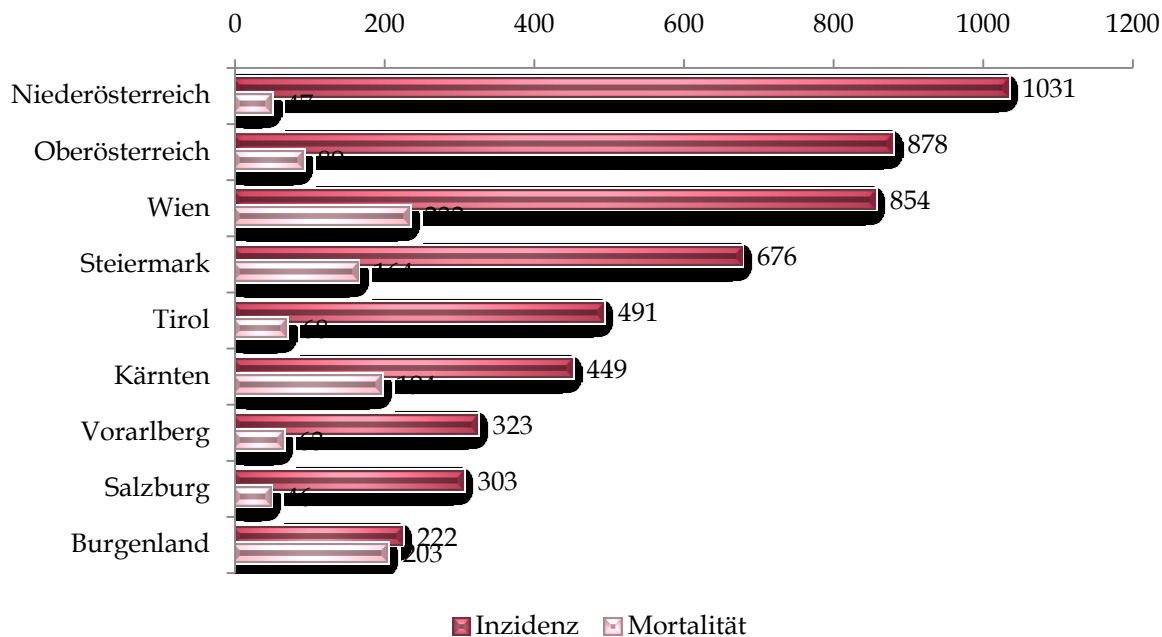


Abbildung 1-3: Vergleichend angeführt sind Inzidenz und Mortalität aller Bundesländer Österreichs in den absoluten Zahlen im Jahresdurchschnitt 2004/2006 (Daten nach Statistik Austria [3]).

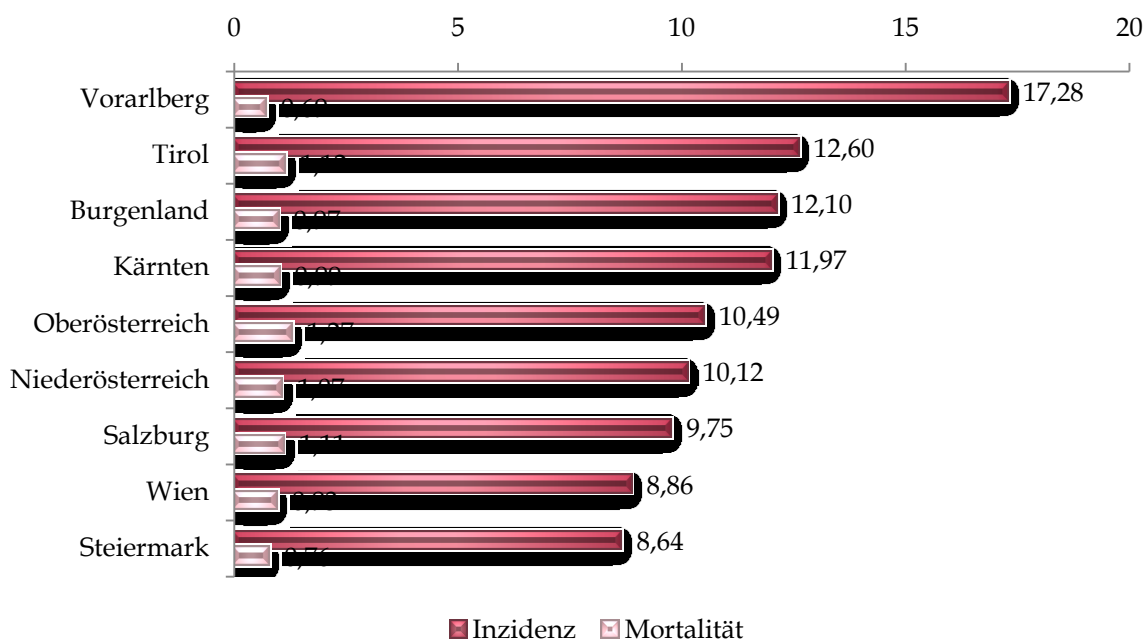


Abbildung 1-4: Graphisch dargestellt sind die kumulativen Raten der Inzidenz sowie der Mortalität des Prostatakarzinoms. Die Balken stellen jeweils den Prozentsatz der auftretenden Inzidenz/Mortalität bis zum 75. Lebensjahr dar (Daten nach Statistik Austria [3]).

Trotz der deutlichen Zunahme der Prostatakarzinomfälle, die man seit 1993 vermehrt registriert, bleibt die Mortalitätsrate unverändert. Die im Vergleich zur Inzidenz niedrige Mortalität ist unter anderem eine Folge des guten Prognosestadiums bei der Diagnose des Prostatakarzinoms.

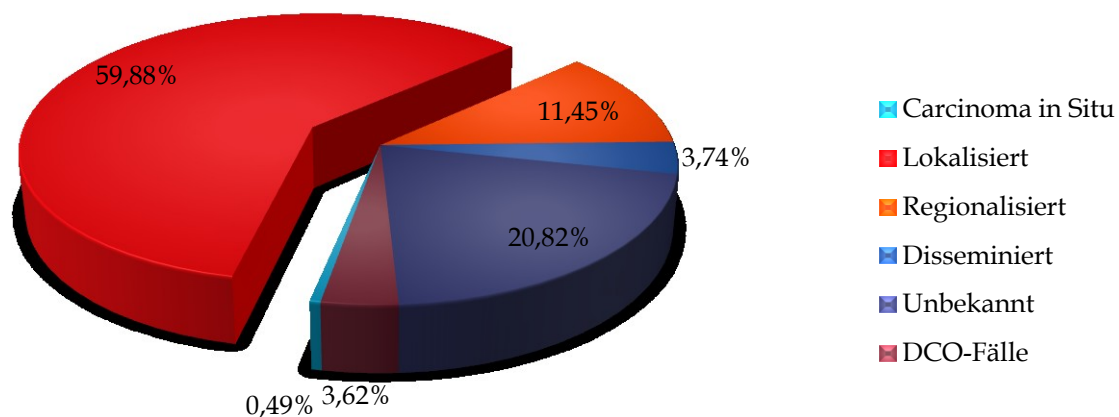


Abbildung 1-5: Die Inzidenz des Prostatakarzinoms nach Stadium wird anhand der Abbildung verdeutlicht. Die Zahlen stammen aus dem Jahresdurchschnitt 2004/2006 (Daten nach Statistik Austria [3]).

Über die Hälfte dieser Karzinome werden in einer frühen Phase, einem noch lokalisierten Tumorstadium, diagnostiziert, was zu einem großen Teil auf empfohlene Vorsorgeuntersuchungen und medizinische diagnostische Möglichkeiten zurückzuführen ist. Die frühzeitige Erkennung gewährleistet demnach ehestmögliches Einschreiten und somit bessere therapeutische Chancen in Bekämpfung und Heilung des Tumors.

Die Prävalenz des Prostatakarzinoms ist wesentlich höher anzunehmen als man erwartet, was durch die Eigenheit von latenten Prostatakarzinomen, sogenannten Frühformen des klinisch manifesten Karzinoms, zu erklären ist. So sind bei 40% der Männer über 50 Jahren latente Tumorzellverbände vorhanden, allerdings erkranken lediglich 8% im Laufe ihres Lebens tatsächlich an einem Prostatakarzinom. Daten aus Autopsien bestätigen eine Prävalenz des latenten Prostatakarzinoms von 20% bei 60-jährigen, 37% bei 70-jährigen und 60% bei 80-jährigen. Folgedessen ist das Prostatakarzinom vermutlich der Tumor mit der höchsten Prävalenz, dennoch werden nur 1/5 bis 1/3 der Karzinome klinisch manifest.

1.1.1.2 Ätiologie

Zwar ist die genaue Ätiologie des Prostatakarzinoms nicht bekannt, dennoch vermutet man, dass das Vorhandensein von Risikofaktoren dessen Entstehung beeinflussen könnte. 10 bis 15% aller Prostatakarzinome sind familiär und vermutlich durch *genetische Faktoren* bedingt, somit sind Personen, bei welchen im unmittelbaren Verwandtenkreis ein Prostatakarzinom diagnostiziert wurde, als Risikopersonen zu behandeln und dementsprechend regelmäßige Kontrolluntersuchungen zu veranlassen. Gelegentlich können in zytogenetisch untersuchten Karzinomzellen der Patienten chromosomale Veränderungen nachgewiesen werden und man kann somit von genetischer Instabilität der Prostatakarzinomzellen infolge von Mutationen ausgehen, was in der Karzinomentstehung von Bedeutung ist [5], [6]. Des Weiteren zieht man *hormonelle Faktoren* in Betracht und Daten zeigen, dass infolge einer Kastration vor der Pubertät es ungewöhnlich ist an einem Prostatakarzinom zu erkranken. Tierversuche zeigten, dass durch eine chronische Östrogen- und Androgenapplikation eine Tumorentste-

hung induziert werden kann. Eine Rolle spielen auch gewisse Lebensumstände, die das Karzinomwachstum beeinflussen. Als solche sind *Essgewohnheiten* wie fettreiche und ballaststoffarme Ernährung und *Umweltfaktoren* anzusehen. Man zieht auch in Erwägung, dass *Infektionskrankheiten* aufgrund der anatomischen Beziehung der Prostata zur Urethra zu den ätiologischen Risikofaktoren zu zählen sind [7], [8]. Des Weiteren werden Diabetes mellitus, Hypoparathyreoidismus, Vitamin D, vermehrter Alkohol- oder Nikotinkonsum und höheres Lebensalter im Zusammenhang mit vermehrter Tumorentstehung erwähnt [9].

1.1.1.3 Klassifikation und Stadieneinteilung

90% aller Prostatakarzinome entstehen in der peripheren Zone des Organs, die an der rektalen Seite gelegen ist und nur in wenigen Fällen finden sie ihren Ursprung in der zentralen Zone oder der Übergangzone. In 98% entwickeln sie sich aus dem Drüsenepithel, welche der Klassifikation zufolge als Adenokarzinome bezeichnet werden, äußerst selten werden hingegen Plattenepithelkarzinome, Übergangsepithelkarzinome oder Sarkome diagnostiziert. Das Adenokarzinom zeigt typischerweise ein multifokales Auftreten und in den verschiedenen Tumoranteilen sind häufig unterschiedliche Differenzierungsgrade anzufinden. Die malignen Drüsen, die sich von den gesunden Drüsen in ihrer Architektur unterscheiden, weisen unterschiedlichste Differenzierungsgrade, von cribriformen bis anaplastischen Wachstumsmustern, auf, die den Malignitätsgrad bestimmen [4]. Es sind 3 Einteilungssysteme für das Grading des Tumors in Verwendung. Die WHO unterscheidet Grad 1 hoch-, 2 mittel- und 3 geringgradig differenziertes Adenokarzinom. Der Gleason-Score bezieht sich bei der Einteilung auf das strukturelle Wachstumsmuster und die Differenzierung der Drüsenstruktur des Karzinoms und bewertet diese anhand eines Punktesystems. Als letztes ist der pathologisch-urologische Arbeitskreis zu nennen, der auf die strukturellen (drüsenartig, kribriform und solide) und die zytologischen (vorhandene Kernaplasien) Eigenschaften eingeht und aus diesen eine Einteilung in 3 Malignitätsgrade (I-III/a oder b) vornimmt [9].

Die Tumorzellen breiten sich vor allem über die Blut- und Lymphbahnen in andere Organe aus. Die Metastasierung erfolgt als erstes in die Lymphknoten der Fossa obturatoria und im weiteren Verlauf kommt es zur Infiltration der präsakralen und inguinalen Lymphknoten, sowie einem paraaortalen Befall und außerdem zu einer lymphogenen Streuung in die Vasa iliaca communis. Die hämatogene Metastasierung folgt in den meisten Fällen der lymphogenen, betrifft vor allem das Skelettsystem. Es wird zwischen den osteolytischen und den osteoblastischen Metastasen, wobei letztere weitaus häufiger beobachtet werden, unterschieden [4].

1.1.1.4 Klinik, Diagnostik und Verlauf

Geht das frühe Stadium des Prostatakarzinoms meist völlig asymptomatisch vor sich, so kommt es mit fortschreitendem Wachstum des Tumors vielfach zu Obstruktionssymptomen, wie Pollakisurie, imperativem Harndrang, Nykturie, Harnträufeln, Dysurie, Hämaturie oder Harnstauungsniere. Bestehen bereits Knochenmetastasen steht eine skeletale Beschwerdesymptomatik im Vordergrund. Die rektale Untersuchung zeigt im Falle eines Karzinoms einen palpablen, derb-höckerigen Knoten, der einer bioptischen Abklärung bedarf. Der PSA-Wert, der einen altersspezifischen Grenzwert aufweist, ist sowohl im Screening als auch in der Kontrolle der Therapie ein wichtiger Marker. Ein vermehrter Einsatz der PSA-Wert Bestimmung in Vorsorgeuntersuchungen wird auch als Einflussfaktor für die steigenden Inzi-

dennzahlen gesehen und gemeinsam mit der rektalen Palpation der Prostata gelingt es in etwa 50% ein Karzinom in einem prognostisch günstigem Frühstadium zu erkennen [9]. Weitere diagnostische Maßnahmen sind die transrektale Sonographie, die den malignen Tumor als hyporeflexives Areal erscheinen lässt, die Kernspintomographie, die Computertomographie, die lokale Lymphadenektomie vor der radikalen Prostatektomie und die Knochenszintigraphie als wichtigste Methode zur Darstellung von Fernmetastasen [4]. Die Differenzierung des Tumors, das klinische Tumorstadium und der PSA-Wert werden als wichtigste Verlaufskriterien des Prostatakarzinoms angeführt.

Das Vorliegen einiger klinischen Merkmale kommt für prognostische Aussagemöglichkeiten zur Anwendung. Ein Tumorstadiums < cT2b, ein PSA-Wert < 10ng/ml und ein Gleason-Score von höchstens 6 sind als günstige Eigenschaften zu werten und lassen vermuten, dass ein niedriges Risiko für eine Tumorprogression besteht. Für ein intermediäres Risiko sprechen Kriterien wie cT2b, PSA-Wert zwischen 10 und 20ng/ml und Gleason-Score von 7. Eine hohe Wahrscheinlichkeit für eine weitere Karzinomausbreitung wird beim Vorhandensein folgender Konstellation, nämlich ab dem Tumorstadium pT2c, einem PSA-Wert über 20ng/ml und einem Gleason-Score von mindestens 8, prognostiziert [9].

1.1.1.5 Therapie

In der Therapie des Prostatakarzinoms muss man diverse Faktoren berücksichtigen, die die Auswahl des Therapieverfahrens beeinflussen. Zu diesen gehören das Tumorstadium, die Aggressivität des Tumors, die Höhe des im Blut untersuchten PSA-Wertes vor der Prostatabiopsie aber auch individuelle Eigenschaften des Patienten. Konsequenter durchgeführte Vorsorgeuntersuchungen sind primär dafür verantwortlich, dass rund 75% der Prostatakarzinome in nicht organüberschreitenden Stadien diagnostiziert werden und demzufolge eine kurative Therapie durch verschiedene Therapiemöglichkeiten angestrebt werden kann.

Tabelle 1-1: Tabellarisch aufgelistet sind die maßgebenden klinischen und diagnostischen Parameter für die Einteilung der Patienten in die entsprechenden Risikogruppen und die daraus resultierende Wahl der Bestrahlungsdosis.

Risikogruppe	PSA-Wert		Grading		Tumorstadium	Therapie
Low risk	≤ 10		GS ≤ 6	und	T1-2a	70 Gy
Intermediate risk	10-20	oder	GS 7	oder	T2b	72 Gy
High risk	> 20	oder	GS 8-10	oder	T2c-T4	74 Gy

1.1.1.5.1 Abwarten und Beobachten

Ein im Stadium T1a diagnostiziertes, gut differenziertes (G1-2) Prostatakarzinom kann im Rahmen einer TURP bei einer benignen Prostatahyperplasie zufällig gefunden werden und wird dann als inzidenten Prostatakarzinom bezeichnet [4]. Nach bewusstem Abwiegen von Vor- und Nachteilen der möglichen Therapieoptionen und Betrachtung individueller Gegebenheiten des jeweiligen Patienten kann man es in Erwägung ziehen, alleinige konsequente und gewissenhafte Kontrolluntersuchungen als ausreichende Behandlungsmöglichkeit zu wählen, die wiederholte PSA-Wertbestimmungen, die stets <4ng/ml sein sollten, transrektalen Ultraschall der Prostata und eventuell Stanzbiopsien beinhalten, um bei diesen Patienten

dennoch eine plötzliche Progression des Tumors rechtzeitig zu erkennen und die notwendige Therapie einzuleiten [9].

1.1.1.5.2 Radikale Prostatektomie

Beim lokalisierten Prostatakarzinom, welches die Stadien T1b, T2, T3, N0 M0 beinhaltet, ist die radikale Prostatektomie als eine Therapie der Wahl anzusehen, wobei die gesamte Pro-

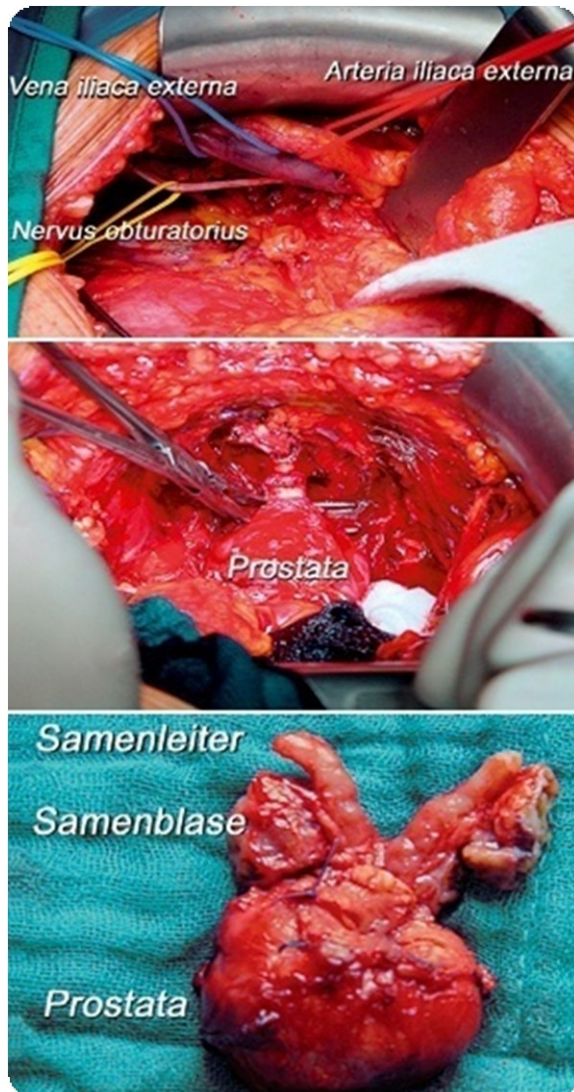


Abbildung 1-6: Prostatakarzinom - Oben: Pelvine Lymphadenektomie. Mitte: Präparation der Harnröhre. Unten: Prostata mit Samenblasen und Samenleitern [11].

tata mitsamt den Samenblasen und der Denonvillierschen Faszie reseziert wird [4]. Eine zusätzliche Lymphadenektomie wird aufgrund des hohen Metastasenrisikos ab einem PSA Wert von 20ng/ml, einem Gleason-Score von mindestens 7 und dem Tumorstadium cT3 empfohlen. Bei fortgeschrittenen Tumoren besteht der Ansatz mit geeigneten adjuvanten Therapiemodalitäten die Tumorkontrolle zu verbessern. Eine alleinige Prostataresektion würde in fortgeschrittenen Tumorstadien keine ausreichende Therapieoption sein und somit versucht man anhand von den genannten adjuvanten Therapieverfahren eine lokale Tumorkontrolle zu erzielen. Eine Prostatektomie zieht wie fast jede Therapiemaßnahme in der Medizin verschiedenste Folgeerscheinungen nach sich. Typischerweise werden Impotenzraten von 51-96% [10], rektale Inkontinenz in 5-18%, Harninkontinenz in bis zu 80% direkt nach der Resektion oder bei 1-6% der Patienten nach einem Jahr und eine Urethrastriktor in weniger als 1,5% der Fälle beschrieben. Des Weiteren sind tiefe Beinvenenthrombosen, Myokardinfarkte und Bauchwandhernien mit einem jeweiligen Auftreten von 1% zu erwähnen. Als postoperativer Tumormarker kommt die Bestimmung des PSA-Wertes zum Einsatz, wobei ein Anstieg über einen definierten Nullbereich auf einen

Residualtumor hindeutet. In frühen Tumorstadien mit niedrigem PSA-Wert und hohem Differenzierungsgrad des Tumors ist die Prognose für ein rückfallfreies Überleben nach erfolgreicher Operation bei über 90%, in intermediären Tumorstadien bei unter 75% und beim Vorhandensein von lokal fortgeschrittenen Tumoren ab dem Stadium pT3b auf unter 50% anzusetzen. Ursachen für die rapide sinkende Überlebenschance sind unter anderem eine unvollständige Entfernung des Tumors und ein daraus entstehendes Rezidiv oder eine bereits vorhandene Metastasierung [9].

1.1.1.5.3 Strahlentherapie

In den frühen Stadien T1-3N0M0 des Prostatakarzinoms, in welchen ein lokal begrenzter Tumor ohne nachweisbare Metastasen vorliegt, kann man gleichermaßen sowohl durch eine primäre perkutane Radiotherapie, als auch durch eine radikale Prostatektomie eine Heilung erreichen. Solange also noch ein lokalisiertes Tumorstadium vorliegt, kann man anstatt eines invasiven Verfahrens auch eine Radiotherapie wählen, bei der dem strahlensensiblen Tumor

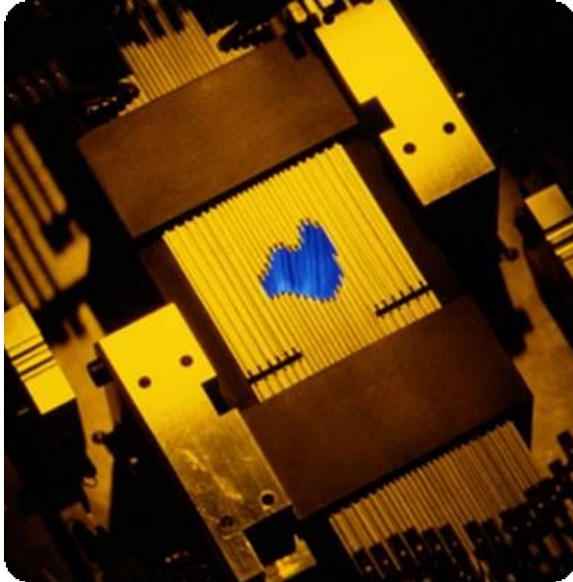


Abbildung 1-7: Tumorkonforme Anpassung der räumlichen Dosisverteilung wird durch integrierte Lamellenblenden (Multi-Leaf-Collimator), die sich im Strahlerkopf des Linearbeschleunigers befinden, ermöglicht [12].

eine ausreichende Strahlendosis verabreicht wird. Das Ziel der Strahlentherapie ist es, die Karzinomzellen, die infiltrierend in das Normalgewebe einwachsen, zu schädigen und zum Absterben zu bringen. Vor Beginn der Therapie des Prostatakarzinoms erfolgt die Erstellung eines Bestrahlungsplanes anhand einer dreidimensionalen Darstellung des Zielvolumens, welches die Prostata und die angrenzenden Samenblasenanteile beinhaltet und der zu verabreichenden Dosis mit Hilfe bildgebender Verfahren wie der Computertomographie, die somit genau berechnet werden kann. Diese CT-gestützte Konformationsradiotherapie gilt als Kurativverfahren, bei der üblicherweise Gesamtdosen von 70 bis 74 Gy verwendet werden, bei fortgeschrittenen bzw. undifferenzierten Tumoren versucht man durch den Einsatz von Dosisescalationen

über 75 Gy bessere Therapieerfolge zu erreichen. Grundsätzlich wird zuvor mittels Computertomographie ein genaues Bestrahlungsfeld geplant. Bei der perkutanen Strahlentherapie wird die errechnete Gesamtdosis anhand von Einzeldosen, die zwischen 1,8 und 2,0 Gy pro Tag liegen, dem Patienten mittels Hochvolt-Radiotherapie appliziert.

Der Bestrahlungszeitraum erstreckt sich üblicherweise über sechs bis sieben Wochen an fünf aufeinanderfolgenden Tagen pro Woche.

Wie die normalen Zellen befinden sich auch die Tumorzellen während des Zeitpunkts der Bestrahlung in einem bestimmten Abschnitt des Zellzyklus, wobei jede einzelne sich in einer jeweils unterschiedlichen Phase befindet. Die Zellen zeigen in den einzelnen Phasen eine unterschiedlich starke Strahlenempfindlichkeit. Die G_0 -Phase gilt bei den Tumorzellen als Ruhephase, in der sie nicht strahlensensibel sind, in der Prämitosephase hingegen kommt es zur gewollten Zerstörung der Tumorzellen. Deshalb ist für ein wünschenswertes Ergebnis ein bestimmter Bestrahlungszyklus notwendig, um möglichst alle Tumorzellen effektiv zu schädigen.

Die perkutane Strahlentherapie ist aber auch als postoperative Therapiemaßnahme von Bedeutung, und kann als postoperative Radiotherapie nach inkompletter Resektion des Tumors oder nach postoperative erneutem PSA-Anstieg zum Einsatz kommen.

Eine Alternative zur Hochvolt-Therapie stellt die Brachytherapie dar, bei der ultraschallgesteuert radioaktive Jod- bzw. mit radioaktivem Palladium gefüllte Kapseln, die als Seeds bezeichnet werden, als im Körper verbleibende Strahlenquellen direkt in der Prostata platziert werden. Bei der HDR-Brachytherapie, dem sogenannten Afterloadverfahren, wird ebenso unter Ultraschallkontrolle radioaktives Iridium 192 mittels perinealen Hohlnadeln an das Organ herangebracht, welches unter Schonung des umliegenden Gewebes besonders hohe Strahlendosen zulässt. Diese zwei letzteren Therapieformen werden bevorzugt bei älteren, multimorbiden Patienten, denen man eine Bestrahlungsserie nicht aufbürden möchte, gewählt [13].

Bei der Therapie des Prostatakarzinoms kann die Strahleneinwirkung eine Proktitis, Impotenz, welche bei dieser Therapieform verglichen mit der Prostataoperation seltener auftritt, Verminderung der Erektionsstärke oder Zystitiden und in den seltensten Fällen Stuhl- und Harninkontinenz als unerwünschte Nebenwirkungen hervorrufen.

1.1.1.5.4 Antiandrogene Therapie

Als fortgeschrittene Prostatakarzinome sind solche anzusehen, bei denen der Tumor bereits Absiedlungen in Lymphknoten gesetzt hat oder schon Fernmetastasen vorhanden sind und keine operative Therapie mehr angestrebt wird und bei welchen die Hormontherapie sich als die wirksamste Behandlungsform erwiesen hat. In etwa 20% der Prostatakarzinome weisen eine Hormonresistenz auf, so sind dennoch 80% der Tumorzellklone hormonsensitiv und es gelingt mit einer Hormontherapie bei diesen Patienten, die bereits Metastasen aufweisen, eine Remission über zwei bis vier Jahre zu erreichen. Bis zu 10% dieser Karzinompatienten leben infolge der Therapie noch bis zu zehn Jahre. Nach einiger Zeit kommt es jedoch erneut zu einem Tumorwachstum und der Entstehung von hormonresistenten Zellklonen. Die antiandrogene Therapie beinhaltet die bilaterale subkapsuläre oder radikale Orchiektomie, LHRH-Agonisten, Gabe von Rezeptorblockern wie Flutamid und Cyproteronacetat, welche zu den steroidalen und nichtsteroidalen Antiandrogenen zählen und die Östrogentherapie. Letztere ist wegen der kardiovaskulären Nebenwirkungen und der Mammahyperplasie eigentlich als obsolet anzusehen.

Es besteht die Möglichkeit im Zuge einer radikalen Prostatektomie oder Radiotherapie eines Prostatakarzinoms mit ungewisser Prognose eine adjuvante Hormontherapie einzuleiten, die Option einer neoadjuvanten Hormongabe mit Antiandrogenen und LHRH-Analoga kann bei fortgeschrittenem Tumorstadium und aggressivem Wachstum gewählt werden [4]. Bicalutamid ist ein nicht-steroidales Antiandrogen-Präparat und sein therapeutischer Effekt kann durch die Hemmung der Testosteronwirkung auf den Tumor erklärt werden. Infolge der Einnahme des Präparates kommt es allerdings nicht zu einer Senkung des Testosteronspiegels und man erhofft man sich ein geringeres Nebenwirkungsprofil als bei anderen Präparaten. Im Rahmen einer Studie therapierte man Patienten mit lokal fortgeschrittenem Prostatakarzinom mit dem Antiandrogen Bicalutamid kombiniert mit einer Radiotherapie und konnte dadurch eine deutliche Reduktion der tumorspezifischen Mortalität verzeichnen [14].

1.1.1.5.5 Chemotherapie

Die Chemotherapie kommt häufig bei Patienten zum Einsatz, bei denen bereits ein fortgeschrittenes Tumorstadium oder eine Tumorprogredienz vorliegen, bezüglich der Überlebenszeit bietet die Chemotherapie jedoch nur in geringem Maß eine Verbesserung für den

Patienten. Kommt es im Zuge einer antiandrogenen Hormontherapie des Prostatakarzinoms zu einem PSA-Anstieg oder einer Tumorprogression spricht man von einem hormonrefraktären Prostatakarzinom und die Einleitung einer Chemotherapie ist zu erwägen. Tumorbedingte Schmerzen und eine immense PSA-Erhöhung mit einer Verdopplungszeit, die unter drei Monaten liegt, sind im Zusammenhang mit dem hormonrefraktären Prostatakarzinom als Indikationen für die Einleitung einer Chemotherapie zu nennen [15].

1.2 Radioonkologie

1.2.1 Die Bedeutung der Strahlentherapie in der Onkologie

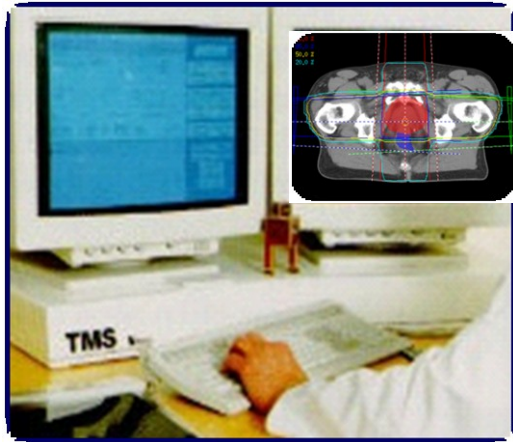


Abbildung 1-8: Computerunterstützte Therapieplanung beim Prostatakarzinom [12].

In den letzten Jahrzehnten kam es ständig zu neuen Erkenntnissen und Entwicklungen in der Tumorthherapie, in der die Radiotherapie eine zentrale Rolle spielt, wobei annähernd 50% aller Tumorpatienten im Verlauf ihrer Krankheit eine Strahlentherapie erhalten. In der onkologischen Therapie wurden immer bessere Ergebnisse erreicht, was sich in weiterer Folge bald in einer enormen Verbesserung der Langzeitüberlebensraten von Karzinompatienten zeigte. In der Strahlentherapie wurden ebenfalls neue Erfolge erzielt und an der Optimierung verschiedener Bestrahlungstechniken wird intensiv geforscht.

1.2.2 Radiotherapie als Therapieoption beim Prostatakarzinom

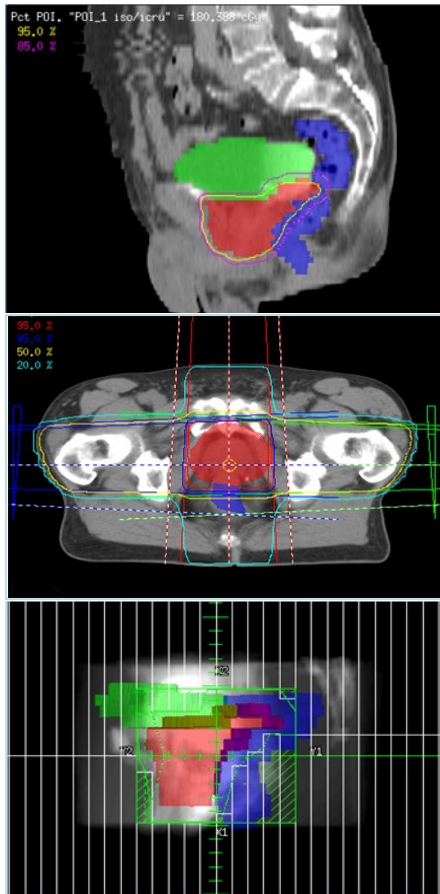
Im folgenden Teil wird im Speziellen auf die Möglichkeiten der Radiotherapie beim diagnostizierten Prostatakarzinom eingegangen und auf etwaige Besonderheiten aufmerksam gemacht.



Abbildung 1-9: Der Linearbeschleuniger erzeugt negativ geladene Teilchen für oberflächliche Herde und ultraharte Röntgenstrahlen für tiefliegende Tumore [12].

1.2.2.1 Zielvolumina und Bestrahlungstechnik

Vor jeder Bestrahlung sind eine Tumorklassifikation, PSA-Wert Bestimmungen, eine Skelettszintigraphie und eine Computertomographie der pelvinen und paraaortalen Lymphknoten für den Nachweis eventueller systemischer Tumorausbreitung und anschließend eine genaue, aufwendige Planung anhand von bildgebenden Verfahren notwendig, wobei beim Prostatakarzinom die Computertomographie in der dreidimensionalen Planung zur An-



wendung kommt. Somit ist eine dreidimensionale Darstellung des Zielvolumens, aber auch der Dosis möglich, die folglich genau berechnet und angegeben werden kann. Die dreidimensionale Bestrahlungsplanung ermöglicht das Erreichen eines steileren Dosisgradienten zwischen dem zu zerstörenden und dem zu schonenden Gewebe und dadurch geringeren Nebenwirkungsraten als durch konventionell geplante Hochvolttherapie. Die Verwendung von Keilfiltern bringt die Möglichkeit mit sich, eine homogene Verteilung der zu applizierenden Dosis zu erlangen (siehe Abbildung 1-10). Die konformale Planung versichert eine Anpassung der Dosis an das Zielvolumen. In Abhängigkeit des vorliegenden Tumorstadiums kommt es zum Einschluss oder zur Ausgrenzung unterschiedlicher Regionen in das Bestrahlungsfeld und zum Einsatz von unterschiedlich hohen Strahlendosen. In frühen Tumorstadien wählt man Gesamtdosen von 70-74 Gy, in sehr frühen können sogar Dosen von 66-70 Gy ausreichen, und bestrahlt ausschließlich die Prostata ohne die Samenblasen oder die pelvinen Lymphknoten in das Zielvolumen einzuschließen. In der Bestrahlung von intermediären und lokal fortgeschrittenen Tumoren sind die Prostata, zumindest die prostatanahen Anteile der Samenblasen, der vorhandene Tumor und in speziellen Fällen auch ausgewählte Lymphbahnen im Zielvolumen enthalten. Die intensitätsmodulierte Strahlentherapie bietet die Möglichkeit bestimmten Anteilen des Zielvolumens höhere Strahlendosen zu verabreichen. Die postoperative Bestrahlung bietet die Möglichkeit im Falle einer unvollständigen Tumorsektion trotzdem eine kurative Therapie zu gewährleisten. Man wählt in solchen Fällen Gesamtdosen von 64-66 Gy.

Abbildung 1-10: dreidimensionale konformale Planung der Bestrahlung eines Prostatakarzinoms [12].

Vor Beginn der Brachytherapie gilt es ebenso eine Planung der folgenden Behandlung durchzuführen, wobei man sich den transrektalen Ultraschall zu Hilfe nimmt, um sich ein genaues Bild über die anatomischen Gegebenheiten zu machen sowie die Zahl und Platzierung der später verwendeten Nadeln oder Seeds festzulegen.

1.2.2.2 Frühe Tumorstadien

Bei prognostisch als günstig eingestuften Karzinomen, die die Parameter cT1-2 cN0 cM0, G1-2, Gleason < 7, PSA < 10ng/ml aufweisen, sind die zwei Therapiemodalitäten, nämlich radikale Prostatektomie versus Strahlentherapie, als gleichwertig einzustufen. In Studien konnte man beweisen, dass durch eine perkutane Bestrahlung des Tumorgebietes mit einer Gesamtdosis von mehr als 70 Gy zufriedenstellende Langzeitergebnisse mit einer Wahrscheinlichkeit für ein rezidivfreies Überleben von über 80% erreicht werden. Eine weitere Option stellt die Low-dose-rate-Brachytherapie dar, bei der es zu einer direkten Implantation von Strahlenquellen wie Jod-125 oder Palladium-103 Seeds kommt, die Gesamtstrahlendosen von jeweils 145 Gy oder 125 Gy aufweisen und diese im Laufe weniger Wochen langsam in das umliegende Gewebe abgeben. Die gute Verträglichkeit und das geringe Nebenwirkungsrisiko der Brachytherapie sind durch die geringe Strahlendosis pro Zeiteinheit zu erklären.

1.2.2.3 Lokal fortgeschrittene Tumorstadien

Als Therapie der Wahl beim lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinom, die in die Kategorie cT1-2 cN0 cM0, G3, Gleason > 6, PSA > 20ng/ml sowie cT3 cN0 cM0, GX fallen, ist neben der Prostataresektion auch die Strahlentherapie als gültige Therapieoption anzusehen. Ein wesentliches Kriterium für eine erfolgreiche Remission ist die Verwendung von ausreichend hohen Strahlendosen, die Studien zufolge Gesamtdosen zwischen 74-78 Gy betragen sollten, wobei man dabei nicht auf die entstehenden Nebenwirkungen und dementsprechende Schonung des umliegenden Gewebes vergessen darf. Bei intermediären oder lokal fortgeschrittenen Tumoren ergibt sich die Möglichkeit die Gesamtdosis der perkutanen Strahlentherapie zu erhöhen, indem man eine High-dose-rate-Brachytherapie, in der bewegte Strahler wie Iridium-192 verwendet werden, zum Einsatz bringt.

1.2.2.4 Additive Radiotherapie

Die Wahl einer alleinigen Resektion der Prostata ist nur bis zu gewissen Tumorstadien mit einem gewünschten Erfolg verbunden und deshalb sollte man bei lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinomen eine additive Radiotherapie in Erwägung ziehen. Grund für das häufigere Auftreten von Rezidiven ist eine Resektion, bei der nicht alle Tumorbestandteile entfernt wurden. Ein PSA-Wert über dem definierten Nullbereich ist ein Marker für eine unvollständige Entfernung des Tumorgewebes, die eine erneute Tumorprogression erwarten lässt. Deshalb wird bei R1-Resektionen empfohlen, im Anschluss an die Operation eine Strahlentherapie einzuleiten. Diese Kombination bringt in etwa 95% der Fälle eine langfristige lokale Tumorkontrolle mit sich.

1.2.2.5 Radiotherapie in Kombination mit antiandrogener Therapie

Beim Vorliegen eines intermediären oder fortgeschrittenen Tumorstadiums ist in den meisten Fällen davon auszugehen, dass sowohl eine neoadjuvante als auch eine längerfristige Androgenblockade sich positiv auf die Behandlungsergebnisse auswirken. Wenn bei Therapiebeginn bereits Metastasen in Lymphknoten nachgewiesen wurden, ist ebenfalls eine additive Hormontherapie über längere Zeit zu empfehlen. Um das Volumen eines zu bestrahlenden Primärtumors vor Beginn der Therapie zu verringern, kann man auf eine vorgeschaltete Hormontherapie zurückgreifen. Des Weiteren bringt eine zusätzliche Langzeithormontherapie von mindestens zwei Jahren den Vorteil einer erhöhten Tumorbeherrschung und da-

durch auch bessere Ergebnisse des Langzeitüberlebens als sie bei der alleinigen Bestrahlung erreicht werden kann.

1.2.2.6 Radiotherapie beim Auftreten eines Rezidivs

Wird nach erfolgter Therapie ein PSA-Anstieg beobachtet, ist mit einem Wiederauftreten des Tumors zu rechnen, wobei ein langsamer, später Anstieg typisch für ein lokales Rezidiv ist, ein früher, schnellerer Anstieg und ein fortgeschrittenes Tumorstadium bei Therapiebeginn hingegen auf eine systemische Metastasierung hinweisen. Wie bereits erwähnt wurde, ist die perkutane Radiotherapie der Prostatatage auch bei nicht tumorfreien Resektionsrändern anzuraten. Zu beachten ist, dass durch die Einflussnahme einer Hormontherapie auf die PSA-Werte das Erkennen eines Rezidivs erschwert sein kann und dass für das Erreichen einer dauerhaften Tumorfreiheit durch eine Bestrahlung des befallenen Gebietes PSA-Werte kleiner als 1.5-2ng/ml als essentiell angesehen werden.

1.2.2.7 Palliative Bestrahlung

Bei der palliativen Behandlung eines Tumorpatienten mit schlechter Prognose und gleichzeitigem Vorhandensein von Metastasen, will man nicht eine Heilung, sondern viel mehr eine Optimierung der verbleibenden Überlebenszeit und eine Steigerung der Lebensqualität erreichen. Durch die lokal wirkende Strahlentherapie versucht man vordergründig die Schmerzsymptomatik, die beispielsweise von Knochenmetastasen oder invasivem Tumorstadium ausgelöst werden, zu minimieren. Man hat in der palliativen Strahlentherapie unter Berücksichtigung der Lebenserwartung die Möglichkeit ein Bestrahlungsschema mit höheren Einzeldosen zu wählen und dadurch kann eine höhere Rate an Karzinomzellen geschädigt werden. In palliativen Situationen steht die Bestrahlung von ossären Metastasen im Vordergrund, die als Komplikationen Knochenschmerzen, Frakturen, spinale Kompressions-syndrome sowie durch den vermehrten Knochenabbau eine Hyperkalzämie nach sich zieht, mit dem Ziel ein Fortschreiten einzugrenzen und die vorhandenen Schmerzen zu vermindern [9].

1.2.3 Folgen der Radiotherapie

Die erzielten Langzeiterfolge und Remissionen in der Behandlung von Tumorerkrankungen haben zur Folge, dass nun bei den überlebenden Patienten häufiger chemotherapeutisch bedingte systemische Nebenwirkungen oder infolge der Strahlentherapie lokale Irritationen des bestrahlten Gebietes zu finden sind.

Das Ziel einer Radiotherapie ist es, eine bestimmte Tumormasse durch den toxischen Effekt der applizierten Strahlengesamtdosis zum Untergang zu bringen oder eine lokale Tumorkontrolle zu erreichen und dies alles möglichst unter Schonung des gesunden umliegenden Gewebes zu gewährleisten. Theoretisch wäre es möglich durch eine ausreichend hohe Bestrahlungsdosis bei jedem Tumor eine lokale Tumorkontrolle zu erreichen. Dies ist klinisch jedoch dadurch stark eingeschränkt, dass man dem gesunden Gewebe nur ein gewisses Maß an akzeptablen Strahlenschäden zumutet, um irreparable Schäden zu vermeiden und dem Patienten eine gewisse Lebensqualität zu gewährleisten. Es wird versucht das Bestrahlungsfeld möglichst auf den Tumor zu begrenzen. Das Miteinberechnen eines bestimmten Sicherheitssaumes in das Zielvolumen ist jedoch unumgänglich, weil beispielsweise physiologische Bewegungen der Prostata auftreten, die durch unterschiedliche Füllungszustände der

Blase und des Darmes aber auch durch die Atmung des Patienten mitverursacht werden. Um das erwünschte Ergebnis der Tumorfreiheit oder -kontrolle erzielen zu können, muss also ein gewisses Maß an unvermeidbarer Schädigung des gesunden Gewebes in Kauf genommen werden. Akzeptabel ist es, wenn die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von schweren Komplikationen innerhalb der folgenden fünf Jahre bei kleiner gleich 5% liegt, was als minimale Toleranzdosis bezeichnet wird. Die maximale Toleranzdosis, TD 50/5 ist definiert als Dosis, die innerhalb von fünf Jahren in maximal 50% schwere Nebenwirkungen zur Folge hat. Diese Eingrenzung der applizierbaren Dosis kann dazu führen, dass nicht alle Tumorzellen infolge der Therapie zugrunde gehen [16]. Man versucht nun ein ausgewogenes therapeutisches Verhältnis zwischen ausreichender, tumorvernichtender jedoch für gesundes Gewebe akzeptabler Dosis zu wählen [17].

1.2.3.1 Akute und chronische Nebenwirkungen der Strahlentherapie

Es kann also zum Auftreten von akuten, chronischen, progredienten oder persistierenden Nebenwirkungen kommen, wobei man bestrebt ist diese so gering wie nur irgendwie möglich zu halten, um dem Patienten trotz der unumgänglichen Irritation der intakten Gewebeteile eine gute Lebensqualität zu sichern. Im Rahmen der Bestrahlung eines Prostatakarzinoms ist mit Strahlenschäden an der perianalen Haut, im Bereich des Urogenitaltraktes und des Rektums zu rechnen [9]. Akute und chronische Strahlenfolgen unterscheiden sich sowohl durch das zeitliche Auftreten, als auch durch ihre Entstehung. Frühe Nebenwirkungen zeigen sich typischerweise während der Therapie oder in unmittelbarer Folge, späte Reaktionen des Gewebes treten hingegen erst nach einer gewissen Latenzzeit von Monaten bis Jahren nach beendeter Strahlentherapie auf.

1.2.3.1.1 Akute Nebenwirkungen

Alle durch die Bestrahlung des Patienten verursachten Folgezustände, die sowohl bereits während der ersten Radiotherapie auftreten, als auch solche, die nach Beendigung der Therapie noch weitere 1-2 Monate anhalten, werden als akute Strahlenschäden bezeichnet und finden ihren Ursprung vor allem in sogenannten Umsatzgeweben, die eine hohe Proliferationsrate aufweisen wie beispielsweise das Knochenmark oder Epithelien der Haut und Schleimhäute. Unter den Begriff der akuten radiogenen Nebenwirkungen fallen die Dys- und Pollakisurie, welche etwa in 50% der behandelten Prostatakarzinompatienten auftreten, in manchen Fällen werden in Folge der Strahlentherapie Blut- und Schleimauflagerungen des Stuhls und eine perianale Dermatitis beobachtet. Hierbei handelt es sich um reversible Erscheinungen, die auch ohne zusätzliche Therapiemaßnahmen wieder abheilen [9]. Eine vorübergehende Suppression der Zellproliferation ist die Ursache für diese Auswirkungen, welche wie erwähnt vor allem in Geweben mit hohem Zellumsatz, wie sie das Knochenmark, die Epidermis und die gastrointestinale Mukosa aufweisen, zu finden sind [17]. Wird einem Patienten eine Brachytherapie verabreicht, können ebenso diverse akute Reaktionen auftreten. In etwa 3-22% kommt es zu einem akuten Harnverhalt, der das Harnlassen unmöglich macht und das Legen eines Katheters zur Entlastung erforderlich ist. Mit großer Wahrscheinlichkeit kommt es auch zu einer Dysurie und einer Dranginkontinenz, die sich jedoch nach einigen Monaten wieder rückbilden.

1.2.3.1.1.1 Pathogenese akuter Strahlenfolgen

Das Einwirken von ionisierenden Strahlen auf gesundes Gewebe löst im Organismus unter anderem zelluläre und humorale Mechanismen aus. Im Körper gehen ständig Prozesse des Zellunterganges und der Zellproliferation, die auf dem Vorhandensein von Stammzellen und deren erneute Teilung in Stammzellen und Transitzellen basieren, vor sich. Die Transitzellen sind nur zu einer begrenzten Anzahl von Vermehrungsteilungen befähigt und ermöglichen es, dass aus einer Stammzellteilung ein größerer Anteil an Zellen hervorgeht [18]. Die ionisierende Strahlung bewirkt im bestrahlten Gewebe eine Verminderung der Stammzellproliferation, die Differenzierung der einzelnen Zellen und der Zelluntergang werden hingegen nicht beeinflusst. Die *zelluläre* Komponente der Schadensentstehung ist durch ein Ungleichgewicht des Zellumsatzes zu erklären, wobei es durch Erreichen eines definierten unteren Grenzwertes der vorhandenen parenchymatösen Stammzellen zur Entstehung von Nebenwirkungen kommt. Doch der Organismus versucht diesem entstehenden Ungleichgewicht entgegenzuwirken, indem die Stammzellteilungen schneller ablaufen, eine symmetrische Stammzellteilung mit zwei Tochterstammzellen anstatt einer vor sich geht und strahlengeschädigte Zellen nur mehr eine begrenzte Teilungsaktivität besitzen. Diese gegensteuernden Mechanismen werden als Repopulierung bezeichnet. Sobald durch Strahleneinwirkung ein bestimmter Anteil an Stammzellen einen Schaden erlitten hat, wird eine kritische Schwelle der noch funktionsfähigen Zellen überschritten und man hat mit massiven klinisch fassbaren Folgewirkungen zu rechnen [19]. Als zweites ist die *humorale* Pathogenese zu nennen, bei der es infolge der Strahleneinwirkung zur vermehrten Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen wie TNF- α oder Interleukinen kommt. Des Weiteren wird die Aktivität der Prostaglandinsynthese und der Stickoxidsynthetase (NOS) gesteigert [18].

1.2.3.1.2 Chronische Nebenwirkungen

Strahlenschäden, die erst nach Monaten oder Jahren in Erscheinung treten, sind im Regelfall irreversibel, chronisch und in manchen Fällen sogar progredient, wobei die Progressionsrate eine gewisse Dosisabhängigkeit aufweist. Es gibt eine weitere Unterteilung der späten Folgen in subakute und endgültig chronische Strahlenfolgen. Die Dosis der Strahlentherapie wird vor allem durch die aus dieser hervorgehenden schwerwiegenden Nebenwirkungen limitiert, deren Schweregrad durch diverse Faktoren beeinflusst werden kann. Diese sind die Qualität und Quantität der Radiotherapie, welche die Gesamtdosis und die fraktionierten Einzeldosen, die Art der Bestrahlung und der Energie enthalten, die organspezifische Gewebetoleranz und die daraus vorhersagbare Strahlenempfindlichkeit, das Gesamtvolumen des bestrahlten Gewebes, zusätzliche belastende Chemotherapie oder Operationen, das Patientenalter und sein Allgemeinzustand, sowie seine bereits bestehenden Krankheiten. Des Weiteren sind individuelle genetische Faktoren von Bedeutung [17]. Zu den bedeutsamsten schwerwiegenden Spätfolgen mit denen man nach einer Strahlentherapie konfrontiert werden kann zählen die Proktitis und die Zystitis, aber auch weniger häufige Nebenwirkungen wie Obstruktionen, Stenosen oder Strikturen im Darm, rektal lokalisierte Reizerscheinungen, Stuhl- und Harninkontinenz oder Urethrastenosen können im Therapieverlauf beobachtet werden. Das Auftreten einer chronischen Zystitis wird im Zuge einer gewissenhaften dreidimensionalen Planung mit einer Wahrscheinlichkeit von 1-3% angenommen. Das Risiko für das Auftreten einer dauerhaften Impotenz infolge einer perkutanen Strahlentherapie liegt zwischen 15-40%, wobei das eventuelle Vorhandensein einer Erektionsstörung, die schon vor Beginn der Strahlentherapie bestand, nicht in allen Fällen ausreichend geklärt ist. Eine chro-

nische Proktitis ist mit einer Wahrscheinlichkeit von 2-5%, Rektumstenosen in weniger als 3%, Blasen- und Urethrastrikturen und permanente Harninkontinenz ebenso in weniger als 3% zu erwarten [20]. Nach operativen Eingriffen an der Prostata wie einer TURP oder einer Resektion ist ebenfalls die Wahrscheinlichkeit eine Inkontinenz zu entwickeln gegeben und um die Entstehung einer bleibenden Inkontinenz zu vermeiden, wird geraten eine notwendige Radiotherapie erst nach Rückbildung der Harninkontinenz einzuleiten [9].

Alle genannten Nebenwirkungen beziehen sich auf eine perkutane Strahlentherapie, aber auch die Brachytherapie hat typische Symptome zur Folge, die jedoch bei weniger als 2% der behandelten Fälle vorkommen. Durch ein erhöhtes Risiko für diese Nebenwirkungsentwicklungen bei vorangegangenen invasiven Eingriffen an der Prostata empfiehlt es sich die Brachytherapie in solchen Situationen nicht durchzuführen. Zu den charakteristischen Folgen einer Brachytherapie zählen Obstruktionserscheinungen der Urethra und Inkontinenz, die sich nicht mehr zurückbilden. In 2-9% kommt es im Laufe des ersten Jahres nach der Behandlung zur Entstehung einer Proktitis, wobei diese eine hohe spontane Rückbildungstendenz aufweist. Allerdings leiden circa 70% der Patienten unter einer verminderten Potenz, welche durch die hohen Strahlendosen und durch bereits vorbestehende Potenzprobleme zusätzlich beeinflusst werden [9].

1.2.3.1.2.1 Pathogenese chronischer Strahlenfolgen

Früher ging man davon aus, dass zwischen der Proliferationsrate eines Gewebes und der Strahlenempfindlichkeit desselben ein Zusammenhang besteht und demzufolge Zellen mit erhöhter reproduktiver Aktivität auch eine erhöhte Strahlenempfindlichkeit aufweisen, Zellen mit geringem Differenzierungsgrad jedoch eine geringere. Durch reichliche Forschungsarbeiten konnte man diese These widerlegen und schließlich gezeigt werden, dass auch in wenig oder nicht proliferierenden Zellen durch ionisierende Strahlung massive DNA-Schäden entstehen. Diese radiogen geschädigten Zellen sind jedoch noch so lange funktionsfähig bis in einer der darauffolgenden Mitosen der Zelltod eintritt. Deshalb wird der bei der Bestrahlung entstandene Schaden vorerst nicht bemerkt und erst nach einiger Zeit ersichtlich. Die bei den chronischen Strahlenfolgen beteiligten Zellkompartimente sind das Organparenchym, das Bindegewebe und das Kapillarsystem.

Es erfolgt wie bei den akuten Strahlenfolgen eine Einteilung in einen zellulären und einen humoralen, aber zusätzlich auch noch in einen vaskulären Entstehungsmechanismus der Spätfolgen nach erfolgter Radiotherapie. Man diskutiert darüber, dass es bei der *zellulären* Schadensentstehung zu einer Aktivitätsminderung der Tissue Rescuing Units kommt und somit die Entstehung von Strahlennebenwirkungen begünstigt ist. Andererseits nimmt man an, dass sich die verschiedenen Gewebe in zwei Typen, nämlich H- und F-type Tissue unterteilen lassen. H-type Tissue beinhaltet Gewebe mit hierarchischer Struktur und ist mit wenigen Ausnahmen mit denen, die im Rahmen einer Bestrahlung akute Nebenwirkungen aufweisen, gleichzusetzen. In solchen Geweben wie Knochenmark oder Haut kommt es infolge einer Radiotherapie zu einer Verminderung der Anzahl funktioneller Zellen. Ebenso findet man in F-type Tissues einen verringerten Anteil an funktionellen Parenchymzellen, wobei man jedoch in derartigen Geweben nicht von einer definitiven Stammzellpopulation ausgeht. Kommt es nun infolge einer Radiotherapie zu einem Verlust von funktionellen Zellen, führt dies zu einer gesteigerten Proliferationsrate der überlebenden Zellen und im weiteren

Verlauf zum Zelltod. Die Höhe der verwendeten Strahlendosis entscheidet über das zeitliche Auftreten der Strahlenfolgen. Je höher also die Dosis gewählt wird, desto kürzer ist die Latenzzeit zu bemessen.

Die *vaskuläre* Pathogenese findet ihre Vertreter in der Atrophie der Haut und der progredienten Teleangiektasie und daraus resultierende kapilläre Blutungen, welche beim Auftreten in Darmschleimhaut, Urothel und Gehirn schwerwiegende Folgen nach sich ziehen können. Nach applizierter Strahlentherapie ist nach einer gewissen Zeitspanne mit dem Auftreten stark dilatierter Kapillaren sogenannten Teleangiektasien zu rechnen. Im Zuge der Radiotherapie ist eine reduzierte Kapillardichte und daraus resultierend eine fokale Atrophie des Parenchyms zu beobachten. Durchaus sind auch Schädigungen der Arteriolen als Folgeerscheinungen zu finden, wobei klinisch vor allem die Mediasklerose im Vordergrund steht und die betroffenen Gewebe nicht mehr adäquat versorgt werden können [18].

Die strahleninduzierte Fibrose ist ein Vertreter der *humoralen* Pathogenese chronischer Strahlennebenwirkungen, die sich durch den Ablauf unzähliger Signaltransduktionsvorgänge langsam entwickelt, bevor es zum Erkennen ihres immensen Ausmaßes kommt und schließlich ein Therapieversuch gestartet wird. Man unterscheidet zwischen reparativen Fibrosen, die als unspezifische Narbenbildung nach einer Verletzung der Gewebeintegrität in Erscheinung tritt und produktiven Fibrosen wie man sie in einzelnen Organen nach einer Bestrahlung vorfindet [18]. Auf zellulärer Ebene sind verschiedenste Enzyme und sekundäre Messenger wie Chemokine, Zytokine, Wachstumsfaktoren wie TNF- α , TGF- β , Interleukine, Hormone, Neurotransmitter oder ein vermehrter Einstrom von Calciumionen an der Signalkaskade beteiligt. Die Entwicklung einer Fibrose wird durch einen externen beispielsweise radiogenen oder auch internen Stimulus wie Entzündungen oder Durchblutungsstörungen initiiert, es kommt zu einem vermehrten Gewebeumbau und Epithelschaden, unzureichender Reepithelialisierung und fehlerhafter Reparatur des entstandenen Defekts mit darauffolgender Funktionsverminderung der betroffenen Region. Die Pathologie der Fibrose zeigt eine vermehrte Aktivität von Fibroblasten, was eine Akkumulation von interstitiellem Bindegewebe zur Folge hat. Die fibrotischen, kollagenreichen Bezirke zeigen durch ein unkontrolliertes Wachstum des Bindegewebes das klinische Bild eines verhärteten, vernarbten, derben, wenig elastischen Gewebes mit verminderter oder verlorengangener Funktion.

1.3 Strahlenschäden an der DNA und deren Reparatur als Grundlage für Strahlenfolgen

1.3.1 Endogene und exogene Auslöser von DNA-Schäden und infolge eingeleitete Reparaturmechanismen

Die äußerst komplizierten und fein aufeinander abgestimmten Mechanismen in der DNA-Replikation sind Voraussetzung für die Stabilität des menschlichen Genoms. Dennoch kann es zum Auftreten von Fehlern in der Replikation und zu Schäden endogener Ursache in der DNA kommen, welche durch verschiedene DNA-Replikations- und Reparaturprozesse wieder behoben werden können. Kommt es zum Ausfall diverser Überwachungsmechanismen oder Reparaturvorgänge entstehen bleibende Veränderungen und Instabilitäten in der entsprechenden DNA-Sequenz, welche schließlich als Mutation, die erhebliche Beeinträchtigungen der Funktionsabläufe eines Organismus infolge der geschädigten Proteinfunktion nach sich ziehen können, bezeichnet werden. So können durch zufällig auftretende Mutationen in somatischen Zellen Zellvarianten entstehen, welche zu unkontrolliertem Zellwachstum befähigt sind. Infolge dieser DNA-Sequenzänderungen besteht nun die Möglichkeit, dass sich durch ungehinderte Proliferation und Überleben in einer einzigen somatischen Zelllinie unzählige Mutationen ansammeln, die die Entwicklung eines Karzinoms nach sich ziehen können. Die meisten Tumorzellen zeichnen sich durch eine erhöhte genetische Instabilität sowie Mutationsraten und zusätzlichen Chromosomenanomalien aus. Weiters besitzen sie diverse Mechanismen, um ihr Überleben zu sichern. Zu nennen sind das Enzym Telomerase oder Mutationen im p53-Gen, welche den Krebszellen ermöglichen sich trotz beschädigter DNA weiter zu teilen, die Umwandlung von Proto-Onkogenen in überaktive Onkogene oder die Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen. Beim Einsatz ionisierender Strahlung sind zahlreicher Proto-Onkogene wie c-fos, c-jun, c-myc und c-Ha-ras von einer Überaktivierung betroffen [21].

Eine Schädigung der menschlichen DNA, die aus mehr als drei Milliarden Basenpaaren und rund 30 000 Genen besteht, durch verschiedene exogene oder endogene Einflüsse führt dazu, dass eine Reihe von DNA-Reparaturmechanismen gestartet werden, um entstandene Defekte der betroffenen DNA-Sequenz wieder rückgängig zu machen. Bereits genannte Fehler in der Replikation, aber auch verschiedene Stoffwechselfvorgänge in den Zellen und dabei produzierte endogene, reaktive Sauerstoffradikale oder exogene Auslöser wie ionisierende Strahlung, ultraviolette Strahlung, verschiedene mutagene Chemikalien, Pflanzentoxine, Viren oder Chemotherapeutika sind als Schadensquellen zu nennen. Durch chemische Reaktionen in der Zelle wie beispielsweise der Hydrolyse kommt es in der DNA bei der Purinierung zu einem Verlust von Purinbasen und durch Desaminierungsreaktionen zu Modifikationen wie etwa zum Austausch der Base Cytosin zu Uracil. UV-Strahlung trägt zur Entstehung von Thymidindimeren bei, welche durch kovalente Bindung zweier benachbarter Thyminbasen hervorgerufen werden. Ionisierende Strahlung führt zu Einzelstrang- und Doppelstrangbrüchen der DNA, Verlust von einzelnen Basen und DNA-DNA oder DNA-Protein Cross-links. Diese auftretenden Schäden in den DNA-Sequenzen, die die genetische Information enthalten, bedürfen einer Reparatur durch eine Vielzahl von Reparaturenzy-

men. Durch eine mangelhafte Funktion der verschiedenen Signal- und Reparaturwege, die normalerweise infolge der DNA-Schädigung eingeleitet werden, kann es so weit kommen, dass die DNA in ihrer Aufgabe, die in der Steuerung der Zellteilung und Zellvermehrung besteht, eingeschränkt ist, was zu einer Anhäufung von strukturellen Schäden im Erbgut und somit zu einer genetischen Instabilität führt. Wenn an bestimmten Genomlokalisationen Schäden entstanden sind, kann dies zu potentiellen Mutationen führen, welche auch in der Tumorentstehung eine gewisse Rolle spielen können. Sobald sich in einer Zelle eine beträchtliche Menge an DNA-Schäden angesammelt hat und sie nicht mehr im Stande ist, weitere auftretende Läsionen zu reparieren, fällt sie entweder in einen irreversiblen Ruhezustand, in dem sie zu keiner weiteren Zellteilung befähigt ist, es wird der programmierte Zelltod eingeleitet oder sie verfällt in den Zustand der unkontrollierten Zellteilung [21], [22].

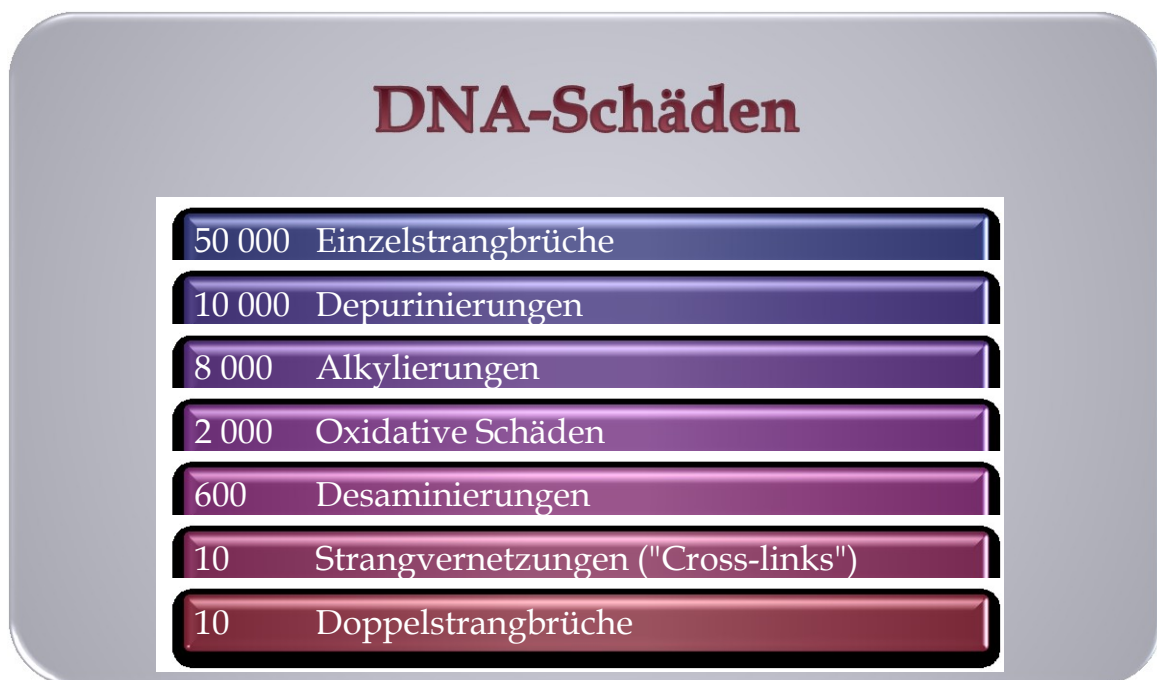


Abbildung 1-11: Täglich in einer Zelle anfallende DNA-Schäden, die infolge von externen oder internen Faktoren ausgelöst werden und welche verschiedene Reparatursysteme in Anspruch nehmen (Daten nach [22]).

1.3.2 Strahlentherapie und ihre Wirkung auf die DNA

Die Bestrahlung mit nur einem Gy hat rund 4.000 bis 5.000 DNA-Schäden zur Folge, wobei eine Verteilung mit in etwa 3.000 Basenschäden, 1.000 Einzelstrangbrüchen und 40 Doppelstrangbrüchen beobachtet werden kann. Wenn ionisierende Strahlung auf den Zellkern und die darin befindliche DNA einwirkt, kommt es entweder zu einer direkten Wirkung der Strahlung innerhalb eines gleichen Moleküls oder zu einer indirekten Strahlenwirkung, die erst über Radikalentstehung und folglich ablaufende Reaktionen zu einer sekundären Schädigung der DNA führen. Einzelstrangbrüche, Doppelstrangbrüche mit maximal 3-4 betroffenen Basenpaaren, irreversible Basenschäden und aufgrund dessen Strukturveränderungen in der DNA, gehäufte dicht nebeneinanderliegende Läsionen, DNA-DNA- oder DNA-Protein-Verbindungen zählen zu den auftretenden Schäden, die man beim Einsatz von ionisierender Strahlung beobachten kann. Von besonderer Bedeutung sind Doppelstrangbrüche,

die eine Unterbrechung beider DNA-Stränge aufweisen und demzufolge für eine Reparatur derselben komplexe Reparaturmechanismen zur Verfügung stehen müssen, um entstandene Schäden effizient zu beheben [19].

1.3.2.1 Verschiedene Möglichkeiten für die Reparatur von Schäden an der DNA

Die DNA-Reparatur, an der unzählige Signalwege und DNA-Reparaturenzyme beteiligt sind, wird in etwa von 150 Genen gesteuert, um die nach den Schäden auftretende Veränderungen der DNA wieder rückgängig zu machen. Diese weist bei jedem einzelnen Menschen eine individuelle Kapazität auf. Zusätzlich ist an den Reparaturmechanismen eine Vielzahl von Molekülen beteiligt, die infolge einer Schädigung der DNA als Sensoren und Effektoren fungieren und über diverse Signaltransduktionsketten eine Reihe von zellulären Prozessen einleiten. Verschiedene Zellzykluskontrollpunkte in G1, S oder G2 können regulierend eingreifen, indem sie die Proliferationsgeschwindigkeit reduzieren oder eine Blockade des Zellzyklus verursachen und gewährleisten somit den einzelnen ablaufenden Mechanismen größere Zeitspannen, um die entstandenen Schäden zu eliminieren.

Die einfachste Art der Reparatur eines DNA-Fehlers ist die Schadensumkehr durch enzymatischen Transfer der Alkylgruppe mittels AGT. Das Auftreten eines fehlgepaarten Nukleotids, welches dann als Mismatch bezeichnet wird, ist das Ergebnis eines Einbaus einer falschen Base in einen neu synthetisierten DNA-Strang während der DNA-Replikation. Dieser Fehler wird von verschiedenen Mismatchreparaturproteinen detektiert und es folgt die Exzision der beschädigten Abschnitte. Beim Versagen der Mismatch-Korrektur kommt die sogenannte DNA-Fehlpaarungskorrektur zum Einsatz. Es gibt die Möglichkeit ein defektes Mismatch-Reparaturgen zu besitzen, was ein hohes Krebsrisiko mit sich bringt. Der Mechanismus der Exzision beinhaltet die Mismatch-Reparatur, bei dem wie zuvor erwähnt nicht korrekt gepaarte Nukleotide entfernt werden, die Basenexzisionsreparatur, die beim Auftreten von modifizierte Basen, Basenverlust oder Einzelstrangbrüchen zur Anwendung kommt und die Nukleotidexzisionsreparatur, die vor allem großräumige DNA-Addukte, wie die bei UV-induzierter Vernetzung zweier benachbarter Thymidine entstehenden Thymidindimere. Als letztes ist die Reparatur eines Doppelstrangbruches, hervorgerufen durch Sauerstoffradikale, ionisierende Strahlung, diverse Chemikalien aber auch bei der Replikation von DNA, die Einzelstrangbrüche aufweist, durch die zwei komplementären Mechanismen Non Homologous End-Joining (NHEJ) und Homologe Rekombination (HR) zu nennen. Das Vorkommen von Doppelstrangbrüchen ist als besonders schwerwiegend anzusehen, da sie im Gegensatz zu einem einfachen Nukleotid-Mismatch eine Reparatur von besonders großem Umfang ist und nicht immer gelingt [22].

Das Protein *XRCC1 (X-Ray Repair Complementing Defective Repair in Chinese Hamster Cells 1)* ist an mehreren DNA-Reparaturmechanismen beteiligt. Seine Funktion ist es eine Stabilisierung während der DNA-Reparatur und Ligatur der Stränge, die dadurch möglichst nicht aus ihrer Position gebracht werden, zu sichern [23].

Das XRCC1 Gen befindet sich auf dem Chromosom 19q13.2 und seine Größe umfasst 27.500 Basenpaare und es beinhaltet 17 Exons.

Tabelle 1-2: XRCC1 und seine Funktionen und Aufgabenbereiche [24].

XRCC1	
Genfunktionen	<ul style="list-style-type: none"> ○ Bindung beschädigter DNA
Prozesse	<ul style="list-style-type: none"> ○ Base-Excision-Repair (apurinische/apyrimidinische Seite) ○ zelluläre Antwort auf einen Stimulus bei DNA-Schäden ○ Nukleotidexzisionsreparatur ○ Reparatur von Einzelstrangbrüchen

1.3.2.1.1 Ausgewählte Reparaturmechanismen

1.3.2.1.1.1 Nukleotidexzisionsreparatur (NER)

Die Nukleotidexzisionsreparatur spielt in der Reparatur von DNA-Schäden, die durch UV-Strahlung oder andere karzinogene Chemikalien verursacht werden, eine tragende Rolle. Eine mangelhafte Funktion des Mechanismus kann man bei Krankheiten wie Cockayne's Syndrom, Trichothiodystrophie oder Xeroderma Pigmentosum beobachten, wobei von letzterer betroffene Patienten eine massiv erhöhte Sensitivität gegenüber UV-Strahlung aufweisen und demnach schon frühzeitig multiple Hautkarzinome entwickeln. In diesem Zusammenhang wurde an der Bedeutung möglicher genetischer Entstehungsmechanismen intensiv geforscht und acht Xeroderma Pigmentation Groups identifiziert.

Der Mechanismus der NER beruht auf dem Prinzip des „cut and paste“ und die Reparatur des Schadens wird in fünf aufeinanderfolgenden Einzelschritten abgehandelt. Zu Beginn wird der zu reparierende Schaden an der DNA durch den XPC-hHR23B-Komplex identifiziert und in weiterer Folge kommen die zwei Helikasen XPD und XPB, die in den TFIIH-Komplex integriert sind, zum Einsatz, um die Doppelhelix am beschädigten Abschnitt aufzutrennen und für weitere Prozesse zugänglich zu machen. Die Proteine XPA und RPA sind notwendig, um den Bereich, der für die Reparatur vorgesehen ist abzugrenzen, damit die zwei Endonukleasen XPF und XPG an der richtigen Position die Inzision des Stranges ausführen können. Nachdem die zuvor abgelaufenen Mechanismen effektiv abgelaufen sind, kommen DNA-Polymerasen und PCNA („Proliferating Cell Nuclear Antigen“) zum Einsatz und abschließend führt die DNA-Ligase I die zusammengehörenden DNA-Stränge wieder aneinander.

Im Rahmen der Nukleotidexzisionsreparatur kommen einerseits das Prinzip des Global Genomic Repair (GGR), andererseits das des Transcription-Coupled Repair (TCR) zur Anwendung, welche sich lediglich in der Identifikation des zu behebbenden Defekts unterscheiden. Bei der TCR wird durch das Vorhandensein eines beschädigten DNA-Stranges die Polymerase II arretiert und anschließend eine Apoptose der Zelle oder auch diverse DNA-Reparaturmechanismen ausgelöst. Bei der Global Genomic Reparatur hingegen ist das XPC Protein für die Erkennung von DNA-Veränderungen verantwortlich, worauf weitere Schritte für die Beseitigung derselben eingeleitet werden [25].

Eine wichtige Rolle in der NER spielt das **ERCC2 - (Excision Repair Cross-Complementing Rodent Repair Deficiency, Complementation Group 2) Protein**, welches auch unter dem Namen XPD (Xeroderma Pigmentation Complementation, Group D) bekannt ist eine ATP-abhängige 5' → 3' DNA-Helikase, die infolge ihrer Bindung an GTF2H2/p44 eine erhöhte Aktivität erhält,

die in weiterer Folge eine Aufwindung der beiden DNA-Stränge ermöglicht und man so für folgende Prozesse einen zugänglichen Einzelstrang vorfindet. Wie bereits erwähnt, handelt es sich um eine DNA-Helikase, deren Aufgabenbereiche in der Transkription und der Nukleotidexzisionsreparatur angesiedelt sind. ERCC2 ermöglicht durch eine Entwindung der Helixstruktur des betroffenen DNA-Stranges den Zugang für alle folgenden Mechanismen der Nukleotidexzisionsreparatur, um entstandene Schäden beheben zu können. ERCC2 bindet auch CAK, welches danach mit dem Transkriptionsfaktor IIIH (TFIIH) eine Verbindung eingeht [23].

Tabelle 1-3: Die Tabelle führt einige Funktionen und Prozesse an, für die ERCC2 von essentieller Bedeutung ist [26].

ERCC2	
Genfunktionen	<ul style="list-style-type: none"> ○ ATP-Bindung ○ ATP-abhängige DNA Helikaseaktivität ○ ATP-abhängige Helikaseaktivität ○ Bindung der DNA ○ Helikaseaktivität ○ Hydrolaseaktivität ○ Nukleotidbindung ○ Bindung von Nucleinsäuren ○ uvm.
Prozesse	<ul style="list-style-type: none"> ○ DNA-Reparatur ○ Nukleotidexzisionsreparatur ○ Regulation der Transkription ○ Apoptose ○ Alterungsprozess ○ Hämatopoetische Stammzellendifferenzierung ○ Zellproliferation ○ Zellteilung in der Embryogenese ○ Reifung der Erythrozyten ○ Differenzierung von Haarzellen ○ uvm.

TFIIH ist ein wichtiger Bestandteil beim Ablauf der Transkription, sowohl in der Polymerase I- als auch in der Polymerase II-vermittelten, der Zellzykluskontrolle, aber auch in der DNA-Reparatur. ERCC2 interagiert auch mit p53 und hat sowohl in der global genome als auch in transcription-coupled Nukleotidexzisionsreparatur eine Bedeutung.

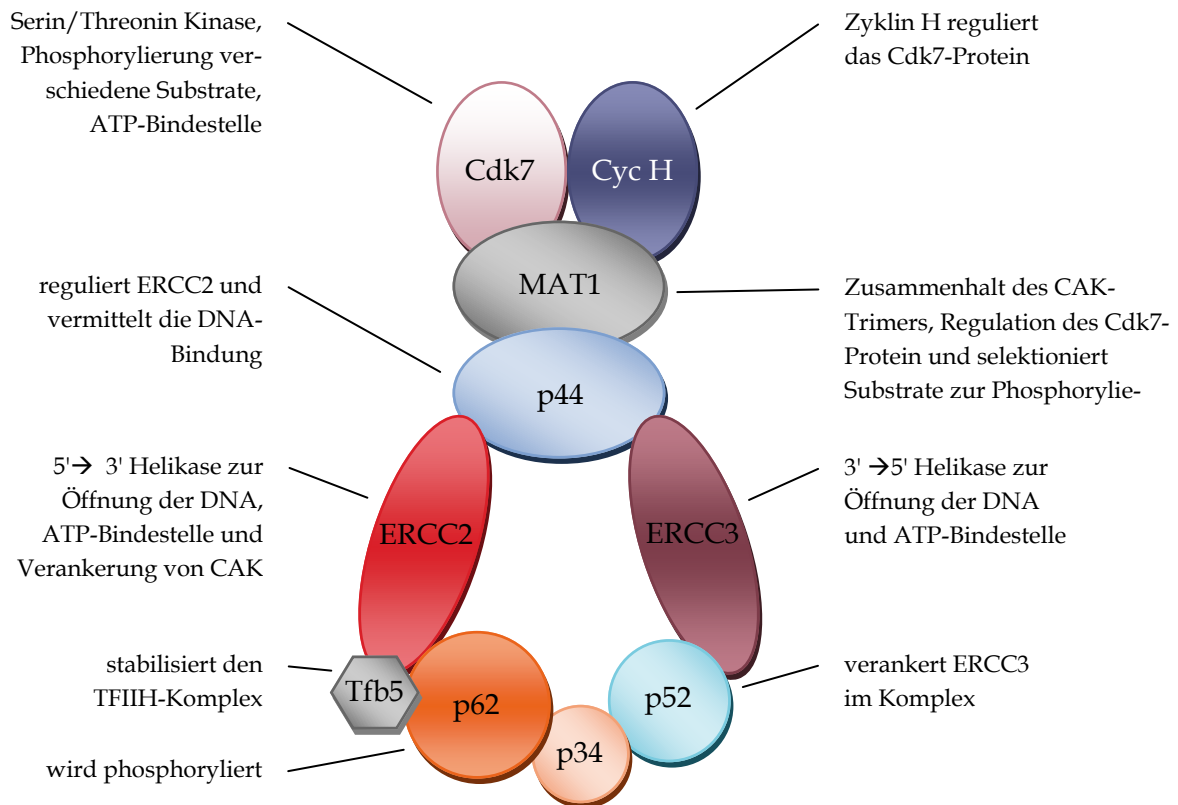


Abbildung 1-12: Die im TFIIH-Komplex integrierten Proteine [27].

Das Gen für ERCC2 ist auf dem Chromosom 19q13.2-13.3 lokalisiert und beinhaltet 54.300 Basenpaare. Klinisch sind bei Veränderungen des XPD eine stark erhöhte Sensibilität gegenüber UV-Licht und demzufolge ein vermehrtes Risiko für Hauttumoren charakteristisch.

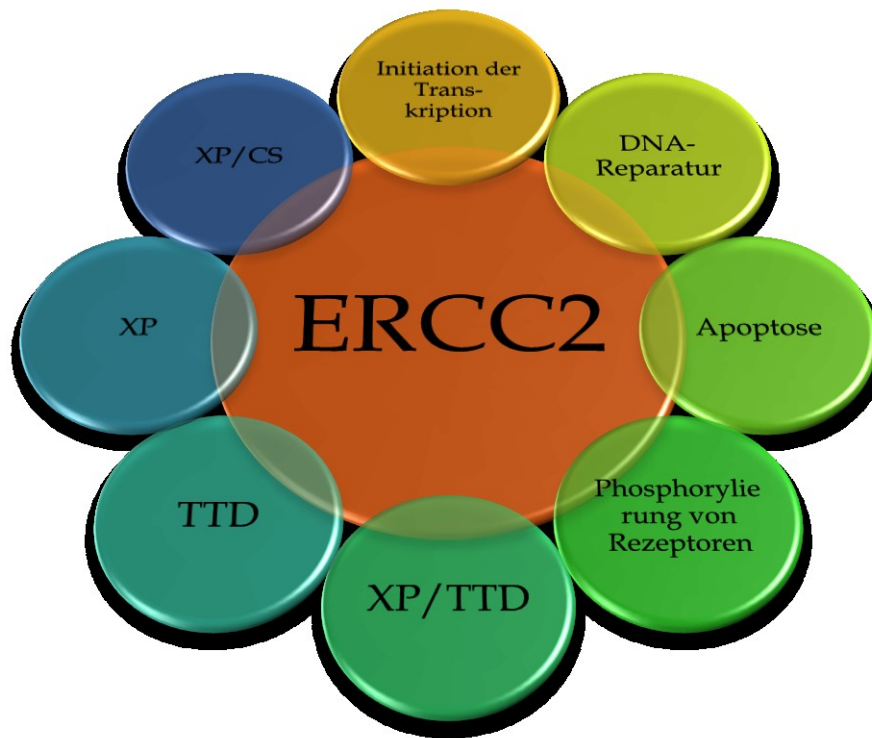


Abbildung 1-13: Bildliche Darstellung der Funktionen des ERCC2 und möglicher Syndrome bei Mutation desselben (Abbildung nach [25]).

Einerseits sind in der Grafik die verschiedenen Aufgabenbereiche des ERCC2 angeführt, zum anderen werden die Syndrome dargestellt, die aus einer Mutation des Gens und dementsprechender Funktionseinbußen, resultieren [25].

1.3.2.1.1.2 Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen

DNA Doppelstrangbrüche (DSB) stellen die gravierendsten strahlenbedingten DNA Schäden dar, und es sind komplexere und aufwendigere zelluläre Vorgänge notwendig, um den Schaden, bei dem beide DNA-Stränge unterbrochen sind, zu reparieren, um dadurch folgenreiche Schäden zu verhindern. Zu den zur Verfügung stehenden bereits erwähnten Mechanismen gehören das Non Homologous End-

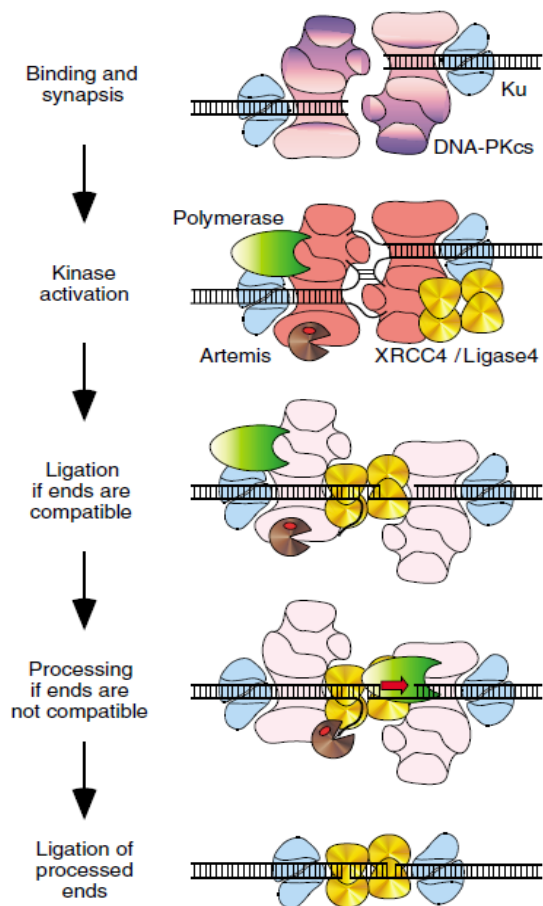


Abbildung 1-14: Ablauf des NHEJ [28].

bevor dies auch die Nuklease und die Polymerase tun. Sind die beiden Enden der DNA kompatibel, werden sie direkt verbunden, passen sie jedoch nicht zueinander, kommen Polymerase und Nuklease zum Einsatz, die die betroffenen Stellen für die folgende Ligatur aufbereiten. Nun liegt es in der Aufgabe von dem Komplex XRCC4/Ligase4 wieder eine Verbindung herzustellen.

Die homologe Rekombination kommt vor allem während der S- oder G2-Phase zur Anwendung und versucht den an der DNA entstandenen Schaden unter Verwendung der DNA von Schwesterchromatiden oder homologen Chromosomen als Matrize wieder in Ordnung zu bringen. Allerdings kommt der Homologen Rekombination bei Hefen und Bakterien größere Bedeutung als beim Menschen zu.

Joining (NHEJ) und die Homologe Rekombination (HR). Das NHEJ (siehe Abbildung 1-14) ist die Hauptkomponente, die für die Reparatur von Doppelstrangbrüchen bei Säugetieren zur Anwendung kommt, wobei vorerst eine Sektion der vom Schaden betroffenen Nukleotide vorgenommen wird, bevor die verbleibenden DNA-Enden durch verschiedene Reparaturenzyme wieder verbunden werden. Der Mechanismus des NHEJ ist ein komplexer Ablauf von aufeinanderfolgenden Einzelschritten und beginnt damit, dass die Ku-Proteine die aufgetretenen Doppelstrangbrüche detektieren und markieren und anschließend DNA-PKcs rekrutiert werden, was eine Reihe weiterer Prozesse nach sich zieht, in die die DNA-abhängige Proteinkinase, Polymerase, Artemis (Proteinkinase) und ebenso der Komplex XRCC4/DNA-Ligase4 integriert sind. Die DNA-PKcs verbindet die beiden Enden des Stranges zu einem synaptischen Komplex und fördert somit eine Aktivierung der Kinase und die Einleitung weiterer Prozesse, die eine Verbindung der zwei Enden voraussetzen. Man vermutet, dass XRCC4/Ligase4 zuerst an den Komplex bindet,

BRCA1 und BRCA2 sind unterstützend in den Reparaturmechanismus integriert, wobei BRCA2 eine wichtigere Rolle einnimmt und eventuelle Defekte in den genannten Genen nicht ohne Folgen in der Effektivität der verschiedenen Reparaturprozesse bleiben. Bei der homologen Rekombination wird zwischen Synthesis-Dependent Strand Annealing (SDSA) und Single-Strand Annealing (SSA) unterschieden, wobei im Zuge der Reparatur eine sogenannte konservative Neusynthese beider DNA-Stränge erfolgt und die dafür verwendeten Matrizen wieder an den Donor zurückgegeben werden. Bei Vorhandensein eines Doppelstrangbruches in einem oder auch zwei homologen Chromosomen, wird der Prozess des SDSA eingeleitet. Zu Beginn ist es die Aufgabe einer Endonuklease durch Einschnitt am 5' Ende das 3' Ende des DNA-Stranges zugänglich zu machen. In weiterer Folge wird eine entsprechende Matrize in Schwesterchromatiden oder homologen

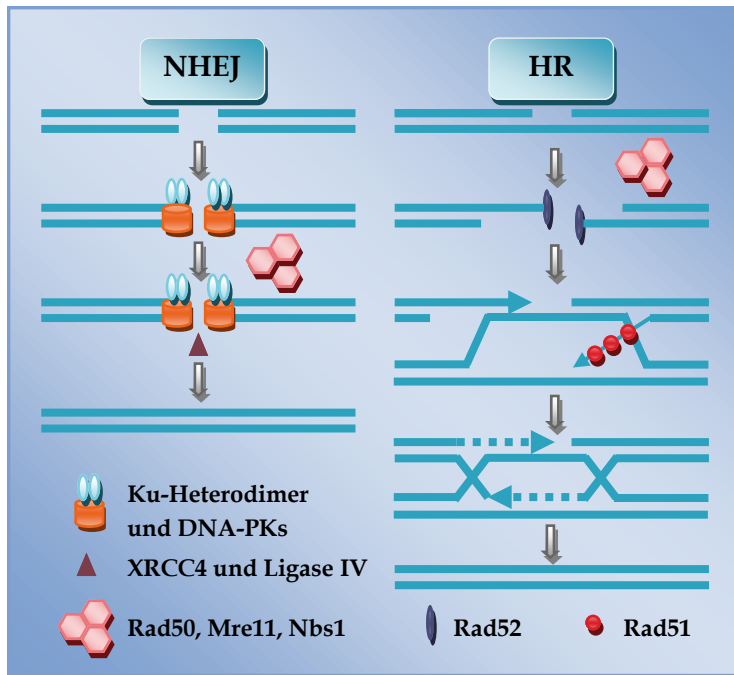


Abbildung 1-15: Reparaturmechanismen infolge eines Doppelstrangbruches der DNA (Abbildung nach [29]).

Chromosomen für die spätere Synthese beschaffen, die als Donorstrang bezeichnet wird. Die Doppelstranghelix wird an das vorhandene 3' Ende herangebracht und bei dieser sogenannten Stranginvasion („strand invasion“) kommt es zur Synthese der DNA unter Zuhilfenahme des zu kopierenden Donorstranges, wobei noch weitere Enzyme wie eine Endonuklease, welche der Entfernung von überlangen Sequenzen dient, eine Polymerase und eine Ligase, für das Füllen von eventuelle Lücken, eine Rolle spielen.

Das Protein RAD52 ist für die Erkennung eines Doppelstrangbruches an der DNA verantwortlich und bindet an beide Enden. Die Aufgabe des RAD51 hingegen ist es eine Matrize mit homologer DNA-Sequenz zu finden, die in weiterer Folge für die Neusynthese des beschädigten Abschnittes verwendet wird.

Eine bedeutende Rolle kommt dem Protein **XRCC3 (X-Ray Repair Complementing Defective Repair in Chinese Hamster Cells 3)** zu, bei welchem es sich um ein dem RAD51 verwandtes Protein handelt. Seine Funktion besteht darin, dem RAD51 Fokus während der Homologen Rekombinationsreparatur von Doppelstrangbrüchen oder Quervernetzungen der DNA-Stränge eine gewisse Stabilisierung zu gewährleisten und ist somit ein notwendiger Bestandteil der DNA-Reparatur. Das XRCC3 Protein ist für die Aufrechterhaltung der Stabilität der Chromosomen unabdingbar [23]. Das XRCC3 Gen ist auf dem Chromosom 14q32.3 lokalisiert und beinhaltet 16.300 Basenpaare.

Tabelle 1-4: XRCC3 - Funktionen und Prozesse in die das XRCC3 involviert ist [30].

XRCC3	
Genfunktionen	<ul style="list-style-type: none"> ○ ATP Bindung ○ DNA Bindung ○ DNA-abhängige ATPase Aktivität ○ Nukleotidbindung
Prozesse	<ul style="list-style-type: none"> ○ DNA Rekombination ○ DNA Reparatur ○ Antwort auf Stimulus bei DNA-Schäden

Beim Single strand annealing wird keine homologe Sequenz für die Reparatur des Doppelstrangbruches herangezogen. Anfangs ist allerdings auch eine Endonuklease für die Inzision am 5' Ende notwendig, was eine Überlappung der beiden DNA-Stränge ermöglicht und im weiteren Verlauf kommt es innerhalb der beiden DNA-Stränge zu einer Verbindung von komplementären Regionen. Die dadurch entstehenden Überhänge werden durch FEN1-ähnliche Nukleasen („Flap removal“) entfernt, was jedoch einen Verlust genetischer Informationen, die diese Flaps enthalten, nach sich zieht [28].

Das Versagen der eingeleiteten Reparaturmechanismen und bleibende Schäden der nicht oder falsch reparierten Doppelstrangbrüche ist im Zusammenhang mit der biologischen Wirkung der ionisierenden Strahlung der einflussreichste Faktor.

1.4 Genetische Varianten als mögliche Ursachen für Unterschiede in der individuellen Strahlenempfindlichkeit

1.4.1 SNPs - Single Nucleotide Polymorphisms in DNA-Reparaturgenen

Der genetische Code wird durch das Vorhandensein von 4 Basen, nämlich Adenin, Cytosin, Guanin und Thymin, gewährleistet. In der DNA-Sequenz kann es durch geringste Veränderungen in der Basenabfolge, wenn beispielsweise ein einzelnes Nukleotid durch eines der anderen drei vorhandenen ersetzt wird, zu einer Veränderung der genetischen Information kommen. Allerdings beinhaltet das humane Genom einen geringen Anteil von nur 4-5%, der für die Codierung von Proteinen verantwortlich ist und man hat erforscht, dass nur ein Bruchteil der SNPs in codierenden Regionen, in denen derartige Einzelnukleotidpolymorphismen bedeutende Auswirkungen nach sich ziehen können, lokalisiert ist.

Durch solche singuläre Nukleotidaustausche in der DNA von Genen kommt es zu SNPs, welche sich von Genmutationen nur durch ihr häufigeres Auftreten von mindestens 1% unterscheiden und meist keinen Krankheitswert haben, aber dennoch durch ihr Vorkommen ein bestimmtes Merkmal wie zum Beispiel Körpergröße, Augen-, Haut- und Haarfarbe, Blutgruppe, die für den Menschen offensichtlich sind, aber auch Unterschiede auf molekularer und zellulärer Ebene und folglich unterschiedliche Kreislaufregulation, Stoffwechsel- und Zellfunktionen, nach sich ziehen.

Die in der DNA auftretenden Sequenzvariationen werden in Einzelnukleotidpolymorphismen, Insertions- und Deletionspolymorphismen und Multiplikationen eingeteilt. Die Einzelnukleotidpolymorphismen sind die am häufigsten vorkommenden Variabilitäten im menschlichen Genom, die sowohl in kodierenden als auch in nicht kodierenden Abschnitten der DNA auftreten können und man nimmt an, dass auf 200 bis 1 000 Basenpaare ein SNP anfällt. Sequenzvariationen im kodierenden Bereich können zu einem Aminosäureaustausch im betroffenen Protein und des Weiteren zu einer Funktionseinschränkung desselben führen. Jedoch ist dadurch nicht zwingend mit einem Aminosäureaustausch zu rechnen, da Aminosäuren häufig durch mehrere Basentriplets codiert werden. Bei den Insertions- und Deletionspolymorphismen handelt es sich um ein Hinzufügen oder einen Verlust von mindestens einem Nukleotid, was im weiteren Verlauf einen Verlust der Aktivität des betroffenen Genproduktes als Folge haben kann [21].

Polymorphismen und seltene Varianten in Genen, welche für Proteine der DNA-Reparaturmechanismen codieren, können die Funktion von DNA-Reparaturproteinen beeinflussen und somit Auswirkungen auf die DNA-Reparaturkapazität haben. Dadurch wäre es möglich, dass SNPs in DNA-Reparaturproteinen das Risiko für die Entstehung von malignen Tumoren beeinflussen sowie auch Einfluss auf das Therapieansprechen und das Risiko für die Entwicklung von Nebenwirkungen infolge der Chemotherapie und Radiotherapie nehmen [31].

1.4.2 Die Rolle von SNPs in DNA-Reparaturgenen für die Entstehung von höhergradigen radiogenen Strahlenfolgen - Grundlegende Überlegungen

Im Laufe der Zeit hat man beobachtet, dass die Patienten, die eine Strahlentherapie erhalten haben, eine große Variabilität in der Häufigkeit, dem Schweregrad, der Erscheinungsform und der Progression der im bestrahlten, gesunden Gewebe auftretenden Nebenwirkungen aufweisen. Diese individuelle Empfindlichkeit auf die Therapie mit ionisierender Strahlung bringt den Verdacht nahe, dass die Radiosensitivität zum Teil durch genetische Komponenten festgelegt wird.

In den vergangenen Jahren kristallisierte sich immer deutlicher heraus, dass in der Entwicklung von Strahlennebenwirkungen diverse genetische Variationen einen entscheidenden Einflussfaktor darstellen.

Strahlenschäden an der DNA spielen eine zentrale Rolle für die Entstehung einer Vielzahl von Strahlenwirkungen. Es ist daher naheliegend, dass eine Änderung in der DNA-Reparaturkapazität wie sie möglicherweise durch SNPs in Regulatoren der DNA-Reparatur verursacht sein könnte, die individuelle Strahlenempfindlichkeit beeinflusst.

Die vorliegende Arbeit wurde durchgeführt, um den Einfluss von SNPs in DNA-Reparaturgenen auf das Auftreten von höhergradigen Strahlenspätfolgen zu untersuchen. Dazu wurden sechs funktionelle SNPs in XRCC1 (rs1799782: Arg194Trp; rs25489: Arg280His; rs25487: Arg399Gln), XRCC3 (rs79874791: Thr241Met) und ERCC2 (rs1799793: Asp312Asn; rs13181: Lys751Gln) ausgewählt, um deren Assoziation mit dem Auftreten von höhergradigen Spätfolgen bei Prostatakarzinompatienten, die einer Strahlentherapie unterzogen wurden, zu analysieren.

Die Identifizierung von Genvarianten und molekularen Marken, die beim Auftreten einer erhöhten Strahlenempfindlichkeit eine Rolle spielen, würde es möglich machen, ein individuelles Risikoprofil der zu behandelnden Patienten festzulegen und in der Therapieplanung auf dieses einzugehen, was zu einer Individualisierung der Behandlung führen würde. Das übergeordnete Ziel ist es, die individuelle Strahlenempfindlichkeit eines Patienten auf die Radiotherapie vorauszusehen, um jedem einzelnen ein spezifisches Behandlungsprotokoll angedeihen lassen zu können. Es gilt im Besonderen die schwerwiegenden Spätkomplikationen einer Radiotherapie, mit denen man erst nach einer gewissen Latenzzeit konfrontiert wird und die aufgrund des vermehrten Einsatzes dieser Therapieoption und der zunehmenden Langzeitüberlebenswahrscheinlichkeit von tumorbehandelten Patienten zu den Hauptproblemfaktoren gezählt werden, zu minimieren.

Wäre bei einem Patienten mit einem erhöhten Risiko zu rechnen, dass dieser im Laufe der Zeit schwerwiegende, radiogene Nebenwirkungen entwickelt, müsste beispielsweise auf Dosisescalationen verzichtet werden, bei Patienten mit einer verminderten Strahlenempfindlichkeit hingegen würde sich die Option einer Dosissteigerung mit verbesserter Tumorkontrolle anbieten [16]. Dies würde die Möglichkeit mit sich bringen, dass man bei weniger radiosensiblen Patienten durch den Einsatz einer höheren Strahlendosis möglicherweise bessere Ergebnisse der Tumorthherapie erreichen könnte.

2 Methoden

2.1 Eingangsphase

Vor Beginn der Diplomarbeit war es notwendig einige Bedingungen wie zum Beispiel den genauen Titel, die Sprache in der diese verfasst werden sollte und eine grobe Angabe des Inhaltes und der gewünschten Ziele der Arbeit, festzulegen und anschließend das Konzeptformular einzureichen, um eine Bewilligung des Themas von Seiten des Rektors zu erlangen. Im Anschluss erfolgte die Erstellung einer groben Gliederung, um den Aufbau der Arbeit zu beschreiben und einen ersten Überblick des Forschungszieles zu bekommen. Die erste Aufgabe war es sich in das Themengebiet einzulesen und erste Informationen für den Allgemeinen Teil zu sammeln, um in der Einleitung grundlegende Informationen rund um das Prostatakarzinom, seiner Therapiemöglichkeiten und der Begriffe der Genpolymorphismen und DNA-Reparaturmechanismen zu erläutern.

2.2 Literaturrecherche

Die Inhalte des allgemeinen Teils dieser Arbeit beziehen sich auf eine umfangreiche Literaturrecherche, deren Quellen in fachspezifischen Lehrbüchern, wissenschaftlichen Artikeln aber auch auf Internetseiten zu finden sind.

In der Diskussion ist der spezielle Teil der Diplomarbeit angesiedelt, in dem auf einige Polymorphismen eingegangen wird, von denen man sich erhofft, dass sie die vermuteten Auswirkungen bei einer Schadensentstehung, die infolge einer Radiotherapie auftreten können, beeinflussen. Um die These der Rolle der genetischen Polymorphismen zu festigen, umfasste die Aufgabenstellung eine Literaturrecherche, anhand dieser ebensolche Artikel herausgefiltert werden sollten, deren Inhalte relevante Daten über die untersuchten SNPs enthalten und anschließend die gewonnenen wissenschaftlichen Erkenntnisse zu exzerpieren und zu analysieren.

Dazu diente die Internetdatenbank PubMed (www.pubmed.gov), in der gezielt Suchbegriffe eingegeben wurden und anschließend eine Filterung der für meine Diplomarbeit relevanten Arbeiten erfolgte und somit als Quelle bei der Suche nach wissenschaftlichen Informationen verschiedenster genetischer Polymorphismen verwendet wurde. Die Suche nach wissenschaftlichen Arbeiten in dieser elektronischen Datenbank erfolgte durch die Eingabe verschiedenster Begriffskombinationen wie sie in untenstehender Tabelle angeführt sind, wobei eine primäre Filterung der gefundenen Artikel bereits nach dem Lesen des Abstracts gemacht wurde. Eine weitere Selektion der ausgewählten Forschungsarbeiten und ebenso eine Vervollständigung noch nicht miteinbezogener Papers erfolgte in Rücksprache mit meiner Diplomarbeitbetreuerin, um repräsentative Informationen und Ergebnisse für die Verfassung meiner Arbeit zu erhalten.

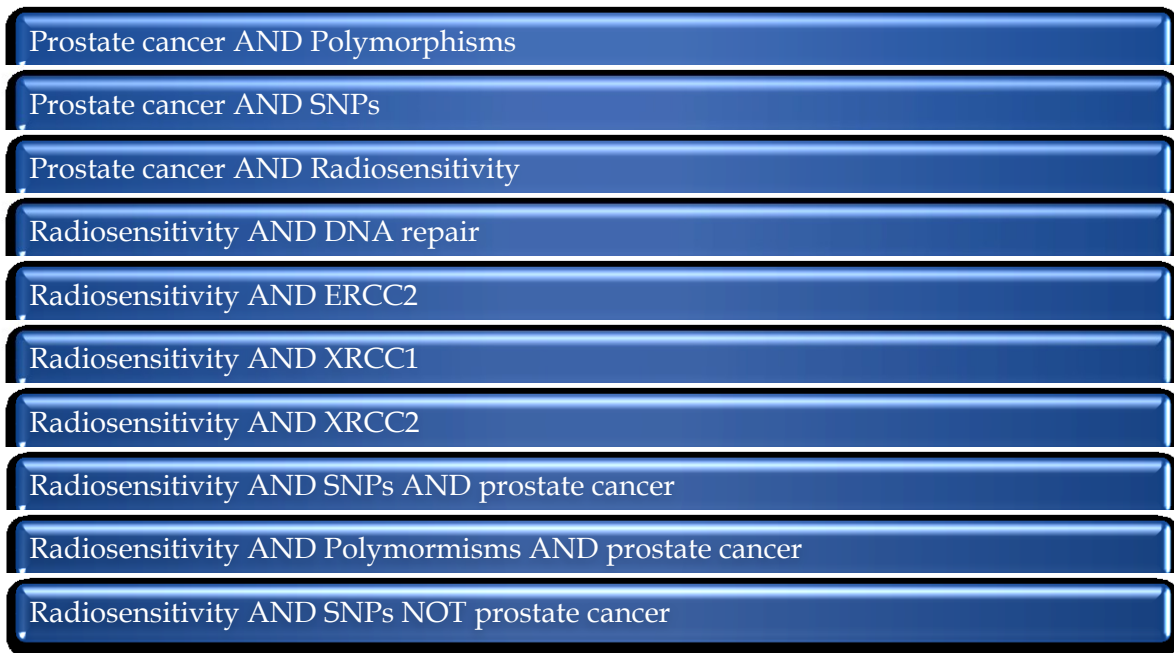


Abbildung 2-1: Aufgelistet sind Beispiele der Schlagwörter die zur Literatursuche in der Suchmaschine des Web of Science dienen.

2.3 Zum Aufbau und zur Durchführung der Studie

2.3.1 Studienteilnehmer

Um den Einfluss von genetischen und anderen molekularen Markern auf das individuelle Strahlentherapieansprechen und die Entwicklung von strahlenbedingten Akut- und Spätnebenwirkungen zu untersuchen, wurden an der Universitätsklinik für Strahlentherapie der Medizinischen Universität Graz 603 Teilnehmer der Austrian Prostate Cancer Genetics Study Group („PROCAGENE“) in die aktuelle Studie eingeschlossen. Voraussetzung waren ein histologisch gesichertes Prostatakarzinom und infolgedessen eine 3-dimensionale konformale Radiotherapie unter Anwendung einer 3-Felder-Technik, welche an der Universitätsklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie Graz durchgeführt worden war. Von den eingeschlossenen 603 Studienteilnehmer wurden 579 Patienten zumindest 4 Monate nachbeobachtet und somit in die statistische Auswertung eingeschlossen.

Bei allen Studienteilnehmern wurde nach dem Prinzip des "informed consent" vorgegangen, das heißt die Einwilligung zur Teilnahme geschah bei jedem einzelnen Patienten erst nach erfolgter Aufklärung. Bei allen Probanden handelte es sich um Kaukasier.

2.3.2 Kriterien

Alle Studienteilnehmer beantworteten einen klinischen Standardfragebogen, welcher Familienanamnese, aktuelle Medikation, etwaige Komorbiditäten wie Diabetes mellitus, Ernährungsstatus und Rauchgewohnheiten beinhaltete.

2.3.3 Datenerhebung

Es wurden im Folgenden angeführte Informationen zu klinisch charakteristischen Eigenschaften der einzelnen Patienten eingeholt und elektronisch archiviert. Diese beinhalteten Alter und PSA-Wert zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und vor Beginn der Bestrahlung, das aktuelle Tumorstadium entsprechend der TNM-Klassifikation, histologisches Grading und zusätzlich Informationen bezüglich Diagnose- und Behandlungsmethoden, aber auch die Option einer zusätzlichen antihormonellen Therapie.

Tabelle 2-1: Tabellarische Darstellung einzelner Parameter entsprechend der Datenerhebung im Rahmen der Studie.

	Patienten
Anzahl (n)	603
Alter in Jahren	68,1 ±6,7
TNM Staging	
T1/T2	334 (57,6%)
T3/4	246 (42,2%)
Grading	
1	478 (81,1%)
3	119 (19,9%)

2.3.4 Details zur Bestrahlungstechnik

Die perkutane Photonenbestrahlung (18MV) erfolgte mittels einer Dreifeldertechnik bestehend aus einem anterioren und zwei lateralen Feldern.

In das Planungszielvolumen eingeschlossen waren die Prostata und die angrenzenden Samenblasenanteile mit einem Sicherheitssaum von einem Zentimeter.

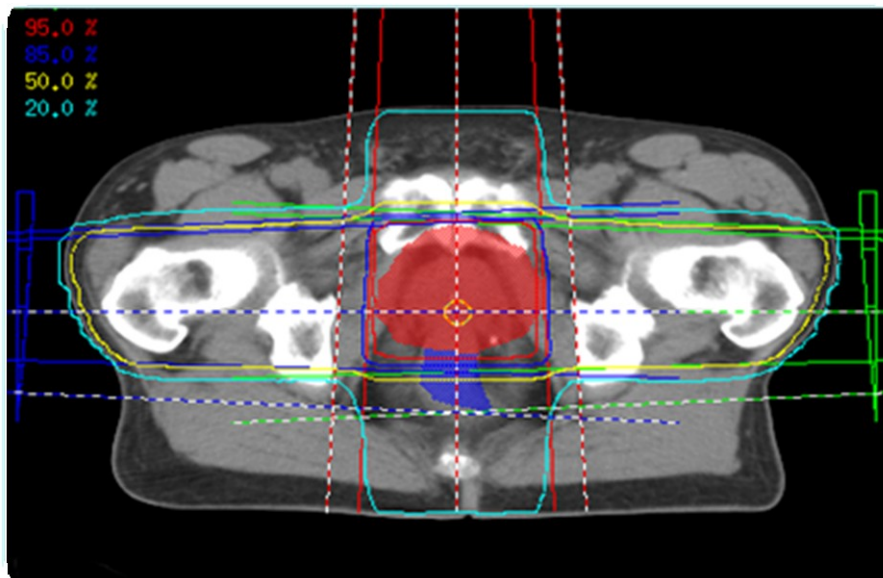


Abbildung 2-2: CT basierte Planung einer dreidimensionalen konformalen Bestrahlung. Das Bestrahlungszielvolumen beinhaltet die Prostata und die angrenzenden Samenblasenanteile mit einem Sicherheitssaum von 1cm, die Rektumvorderwand liegt im Hochdosisbereich [12].

Die Bestrahlung der Felder erfolgte an 5 Tagen pro Woche. Eine Gesamtdosis von 66-74 Gy, entsprechend den Richtlinien der "International Commission on Radiation Units and Measurement", aufgeteilt auf 1,8-2 Gy pro Fraktion, wurde festgelegt.

Bei einer Subgruppe von 110 Patienten wurde die Strahlentherapie aufgrund eines biochemischen Rezidivs nach einer radikalen Prostatektomie als Salvage-Radiotherapie durchgeführt. Diese Patienten wurden ebenfalls mittels einer konformalen Dreifeldertechnik bestrahlt, bei der tägliche Einzelfraktionen von 1,8-2 Gy und eine Gesamtdosis von 66-70,4 Gy für die Bestrahlung des Prostatabettes appliziert wurden.

408 Patienten erhielten ebenso eine neoadjuvante antihormonale Therapie.

2.3.5 Informationen bezüglich der Radiotoxizität

Das RTOG Scoring-System dient zur Erfassung von Nebenwirkungen und Folgen einer Strahlentherapie in einer reproduzierbaren Weise. Im Zuge der Studie wurden radiogene Spätfolgen entsprechend den Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) Kriterien gewertet.

Tabelle 2-2: Ausschnitt des RTOG-Scoring System zur Beurteilung des Schweregrades der Nebenwirkungen infolge einer Radiotherapie [35].

Modifizierte RTOG-Systematik					
Toxizität/ Grad	0	1	2	3	4
Dick- und Enddarm mit Beckenregion	-	gering reduzierte Stuhlkonsistenz, geringe Krämpfe; Stuhl <5 mal pro Tag; geringer Schleim- oder Blutabgang	deutlich verminderte Stuhlkonsistenz und Bauchkrämpfe; Stuhl >5 mal pro Tag; viel Schleim- oder zeitweilig Blutabgang	massiv vermehrte (wässrige) Stühle, operationsbedürftige Darmobstruktion, Ileus oder Blutung	Nekrose, Perforation, Fistel; (sonstige lebensbedrohliche Darmkomplikationen)
Harnleiter und Blase	-	geringe Schleimhautatrophie; geringe (kleinflächige) Teleangiektasie; (Harndrang gering verstärkt); Mikrohämaturie	mäßig verstärkter Harndrang; generalisierte Teleangiektasie; zeitweilig Makrohämaturie; (Polyurie: >6 mal/Tag oder <1 mal pro Stunde)	massiver Harndrang (>1 mal pro Stunde) und Dysurie; ausgeprägt generalisierte Teleangiektasie (oft mit Petechien); häufig Hämaturie, (stark) reduzierte Blasenkapazität <150 - 100 cm ³	Nekrose; (Perforation, Fistel) schwere Blasenkontraktur: stark reduzierte Blasenkapazität <100 cm ³ ; schwere hämorrhagische Zystitis; (Zystektomie nötig)

2.3.6 Ergebnisse von Follow-up Untersuchungen

Regelmäßige Kontrolluntersuchungen in dreimonatigen Intervallen im ersten Jahr bis zum dritten Jahr nach der Bestrahlung wurden veranlasst, danach folgten die Untersuchungen in sechsmonatigen Intervallen in den Jahren 4-5 und schließlich zwölfmonatige Intervalle in den Jahren 6-15 nach der durchgeführten Strahlentherapie. Bei den regelmäßigen Kontrollen wurde der PSA-Wert bestimmt, eine digital-rektale Untersuchung durchgeführt und der Fragebogen bezüglich Komorbiditäten, aktuellen Medikamenteneinnahmen und Ernährungsstatus vervollständigt. Zusätzlich erfolgten Toxizitätsevaluationen infolge der stattgehabten Strahlentherapie, wobei man die aufgetretenen akuten und späten urogenitalen und gastrointestinalen Strahlenfolgen entsprechend den Kriterien der RTOG dokumentierte.

Diese Daten sind derzeit elektronisch in einer MS Access Datenbank unter strengem Datenschutz gemäß den Richtlinien des Österreichischen Gentechnikgesetzes gespeichert und die Studie wurde von der zuständigen Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz befürwortet.

2.3.7 Isolation der genomischen DNA

Vor Studieneintritt wurde von jedem einzelnen PROCAGENE Teilnehmer eine EDTA-Blutprobe von circa 5 ml entnommen und die gesammelten Röhrchen wurden anschließend bei -20°C gelagert.

Die Isolation der genomischen DNA wurde mit einem vollautomatischen Extraktions-Roboter (GeneMole) durchgeführt. Dieses Gerät wurde für die vollständig automatisierte Extraktion von Nukleinsäuren aus Blut, Zellen oder Gewebe entwickelt und kann 16 Proben in einem Durchlauf verarbeiten.

Das GeneMole-Gerät isoliert Nukleinsäuren basierend auf paramagnetischen Kügelchen ("Beads"). Das Verfahren umfasst die Lyse der Blutproben, die Bindung der DNA an die paramagnetischen Kügelchen, die Auswaschung unerwünschter Komponenten und abschließend die Elution hochreiner DNA in einem TE-Puffer.

In Vorversuchen am ZMF Graz konnte gezeigt werden, dass die mittels dieser Methode präparierte DNA sehr hohe Qualität hat und für empfindliche weitere Methoden - wie z.B. TaqMan-Genotypisierungen - direkt eingesetzt werden kann.

2.3.8 Bestimmung der Einzelnukleotidpolymorphismen

Die genomische DNA wurde anhand standardisierter Methoden isoliert. Die Genotypisierung der genetischer Polymorphismen in den Genen XRCC1, XRCC3 und ERCC2 wurden mit der fluoreszenz-basierten 5'-Exonuclease (TaqMan) Technologie unter Verwendung des Assay-by-Design-service von Applied Biosystems durchgeführt. Die üblichen Reaktionsbedingungen des TaqMan Gene Expression Assays waren wie vorher beschrieben [33]. Diese Methode gilt derzeit als eines der schnellsten und effizientesten Systeme zur Genotypisierung von humanen DNA-Proben.

Beim TaqMan- oder auch 5'-Nuclease-Assay liegt zwischen zwei spezifischen Oligonukleotid-Primern ein zusätzliches, fluoreszenzmarkiertes Oligonukleotid, die so genannte TaqMan-Sonde. Diese Sonde ist mit einem Reporter-Fluoreszenzfarbstoff am 5'-Ende und einem

am 3'-Ende liegenden Quencher markiert. Bei der Neustrangsynthese kommt es zum Abbau der Sonde und durch die Trennung von Reporter-Farbstoff und Quencher zum Fluoreszenzsignal. Durch den Vergleich der Fluoreszenzwerte zweier Sonden kann jeder Probe ein eindeutiger Genotyp zugeordnet werden.

2.3.9 Statistische Methoden

Statistische Analysen erfolgten unter Verwendung der SPSS 16.0 Software für Windows. Vergleichsanalysen wurden mit geeigneten statistischen Testverfahren (Student's t-Test, Rangsummentest, χ^2 -Test, ANOVA) durchgeführt. Für die numerischen Werte wurde der Student's t-Test herangezogen, die Proportionen der Gruppen wurden anhand des χ^2 -Tests verglichen. Odds ratio und ein 95%iges Konfidenzintervall wurden mit Hilfe der Regressionsanalyse kalkuliert und für das relative Risiko wurde das Cox-Regressionsmodell verwendet. Der Zusammenhang zwischen den Genotypen und der Toxizität wurde analysiert, indem die kumulativen Überlebensraten mit der Kaplan-Meier Methode errechnet wurden und diese anschließend mit dem Log-rank Test evaluiert wurden. Der Grenzwert für eine Signifikanz der untersuchten Polymorphismen ist bei $P < 0.05$ festgelegt worden. Die multivariate Regressionsanalyse (Cox-Regressionsmodell) wurde zur Stratifizierung und zur Erkennung von umweltbedingten Wechselwirkungen und weiteren Einflussfaktoren herangezogen.

3 Ergebnisse

3.1 Statistische Auswertung

Nach einer medianen Nachbeobachtungszeit von 35 Monaten zeigten sich bei 91 Patienten (15,7%) rektale und/oder urogenitale Spätfolgen Grad ≥ 2 , beurteilt entsprechend dem standardisierten RTOG-Score. Es ist zu erwähnen, dass die Genotypen aus populationsgenetischer Sicht keine Abweichung vom Hardy-Weinberg Equilibrium zeigten.

Um den Zusammenhang zwischen den genetischen Polymorphismen in ERCC2, XRCC1 und XRCC3 und der Entwicklung von späten höhergradigen Nebenwirkungen infolge einer Radiotherapie bei Prostatakarzinompatienten zu überprüfen wurden diverse statistische Analysen durchgeführt, die Ergebnisse werden im Folgenden erläutert.

Zu Beginn wurde eine Analyse mittels Kreuztabelle veranlasst, welche einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Polymorphismus Arg280His des XRCC1 Gens und der Entwicklung einer Toxizität Grad ≥ 2 , beurteilt mittels RTOG, zeigte ($p=0.016$). Für die übrigen untersuchten SNPs zeigten sich keine statistisch signifikanten Assoziationen mit dem Auftreten von höhergradigen radiogenen Nebenwirkungen.

Tabelle 3-1: Die im Rahmen der Studie untersuchten Polymorphismen, die bei den follow-up Untersuchungen beurteilt und anschließend dokumentierte Toxizität und die mittels χ^2 -Test ausgewertete statistische Signifikanz der einzelnen SNPs sind in der Tabelle angeführt.

Polymorphismus	Genotyp	Toxizität RTOG ≥ 2		p (χ^2)
		nein	ja	
ERCC2 Asp312Asn	Asp/Asp	193 (39,7%)	40 (44,0%)	0.40
	Asp/Asn	213 (43,8%)	41 (45,1%)	
	Asn/Asn	80 (16,5%)	10 (11,0%)	
ERCC2 Lys751Gln	Lys/Lys	161 (33,0%)	34 (37,4%)	0.71
	Lys/Gln	250 (51,2%)	43 (47,3%)	
	Gln/Gln	77 (15,8%)	14 (15,4%)	
XRCC1 Arg194Trp	Arg/Arg	421 (86,6%)	80 (87,9%)	0.62
	Arg/Trp	60 (12,3%)	11 (12,1%)	
	Trp/Trp	5 (1,0%)	0 (0%)	
XRCC1 Arg280His	Arg/Arg	430 (88,3%)	88 (97,6%)	0.016
	Arg/His	57 (11,7%)	3 (3,3%)	
	His/His	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
XRCC1 Arg399Gln	Arg/Arg	66 (13,6%)	13 (14,3%)	0.77
	Arg/Gln	227 (46,9%)	39 (42,9%)	
	Gln/Gln	191 (39,5%)	39 (42,9%)	
XRCC3 Thr241Met	Thr/Thr	175 (36,2%)	37 (41,1%)	0.53
	Thr/Met	225 (45,9%)	36 (40,0%)	
	Met/Met	86 (18,0%)	17 (18,9%)	

Auch in der Kaplan-Meier Analyse zeigte sich, dass diejenigen Patienten, die das XRCC1 280His Allel besaßen, ein erniedrigtes Risiko für späte radiogene Nebenwirkungen RTOG ≥ 2 ($p=0,022$) hatten (siehe Abbildung 3-1).

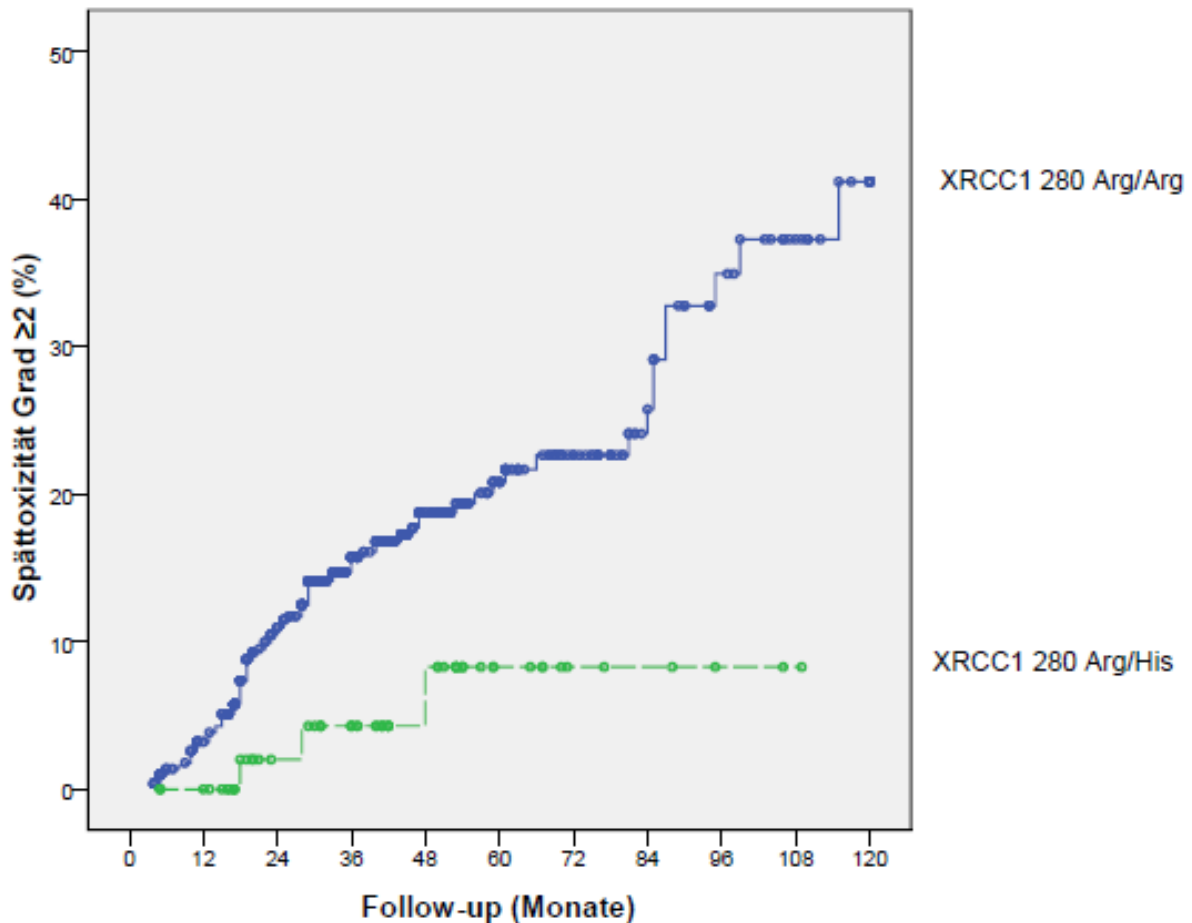


Abbildung 3-1: XRCC1 Arg280His Polymorphismus und die grafische Darstellung der Entwicklung von späten urogenitalen und/oder gastrointestinalen Nebenwirkungen mit einem RTOG Grad ≥ 2 , die bei den Kontrolluntersuchungen beobachtet werden konnten. Der blaue Kurvenverlauf im Diagramm beinhaltet die Patienten mit dem Wildtypallel Arg/Arg, die grüne diejenigen mit dem Polymorphismus XRCC1 Arg280His. Klar ersichtlich ist in dieser Abbildung ein deutliches Ansteigen der Kurve mit dem Fortschreiten der postradiogenen Zeitspanne für das homozygote Allel, nicht jedoch für den Polymorphismus Arg/His.

Die Analyse mittels univariatem Cox-Regressionsmodell ergab für Träger des XRCC1 280His Allels ein relatives Risiko von 0,28 (95% KI 0,09-0,9; $p=0,032$) für die Entwicklung von späten Nebenwirkungen RTOG ≥ 2 .

Ein multivariates Cox-Regressionsmodell, bei welchem potentielle Störfaktoren, nämlich das Alter zum Zeitpunkt der Diagnose und auch die Indikation für eine Radiotherapie (Salvage oder definitive Radiotherapie) in die statistischen Analysen miteinbezogen wurden, zeigte für Träger des XRCC1 280His Allels ein relatives Risiko von 0,27 (95% KI 0,09-0,90; $p=0,025$).

4 Diskussion

4.1 Polymorphismen in DNA-Reparaturgenen und ihr Einfluss die

Entwicklung radiogener Effekte in der Radioonkologie

Um anfallende Schäden an der DNA effektiv zu beheben sind eine Reihe von Reparaturprozesse wie die Basen- und Nukleotidexzisionsreparatur, die Homologe Rekombination, das Non Homologous End-Joining oder auch Zellzykluskontrollpunkte als notwendige Bestandteile für die zu bewahrende Integrität des menschlichen Erbgutes vorgesehen. Mohrenweiser et al. befassten sich in einer ihrer Arbeiten mit der Analyse von SNPs in Genen, bei denen sie vermuteten, dass sie auf die Funktionsfähigkeit der einzelnen Reparaturprozesse Einfluss ausüben könnten. Sie versuchten mögliche Zusammenhänge zwischen dem Nachweis genetischer Varianten in dem Erbgut eines Individuums und der daraus resultierenden Begünstigung für die Entstehung von malignen Tumoren oder auch ihrer Rolle im therapeutischen Bereich im Speziellen Zusammenhänge von SNPs und dem Auftreten von radiogenen Spätfolgen zu untersuchen, um ihre Annahmen bestätigen zu können. In ihrer Studie arbeiteten sie anhand eines Screenings von 37 humanen DNA-Reparaturgenen an der Identifizierung von 127 Varianten im Aminosäureaustausch [34].

In folgender Tabelle ist ein Bruchteil der Gene aufgelistet, bei denen in der Studie Einzel-nukleotidpolymorphismen verifiziert werden konnten. Für die einzelnen Gene sind ebenso die Aminosäuren angeführt, die infolge eines Basenaustausches in der DNA anstatt der üblichen eingebaut werden, was in weiterer Folge zur Produktion eines anderen Proteins führt als dies herkömmlicherweise der Fall ist. Auf die in der Liste angeführten Gene und die nachgewiesenen Polymorphismen wird im folgenden Abschnitt der Schwerpunkt gesetzt.

Tabelle 4-1: Ausschnitt identifizierter Genvarianten (Daten nach [34]).

Gen	Exon	Codon	Genprodukt		Genfrequenz	cDNA Sequenz 5'→3'
			Wildtyp	Variante		
XRCC1	6	194	Arg	Trp	0,13	TCAGC(C/T)GGATC
XRCC1	9	280	Arg	His	0,03	AACTC(G/A)TACCC
XRCC1	10	399	Arg	Gln	0,24	CTCCC(G/A)GAGGT
XRCC3	7	241	Thr	Met	0,43	GGCCA(C/T)GCTGC
ERCC2	10	312	Asp	Asn	0,4	TGCCC(G/A)ACGAA
ERCC2	23	751	Lys	Gln	0,32	CGCTG(A/C)AGAGG

4.1.1 Aufarbeitung ausgesuchter Artikel

Es kann angenommen werden, dass eine Reihe von SNPs in Genen, die in Reparaturprozessen der DNA eine Rolle spielen, Einfluss auf die Kapazität der einzelnen ablaufenden Vorgänge in der DNA-Reparatur ausüben könnten. Dennoch wurde in meiner Arbeit der zu analysierende Bereich stark eingegrenzt, indem sich meine Recherche auf die Untersuchung von drei Genen limitiert hat. Es sind dies die Gene XRCC1, XRCC3 und ERCC2 und die be-

reits beschriebenen Polymorphismen in diesen, auf die ich spezielles Augenmerk gerichtet habe.

Die Bedeutung des Vorhandenseins von SNPs in diesen DNA-Reparaturgenen hinsichtlich möglicher begünstigender oder präventiver Eigenschaften für die Entwicklung von schweren radiogenen Schäden wird im Folgenden anhand einer Ausarbeitung und Analyse von diversen ausgewählten Studien erörtert.

4.1.1.1 Gene-Pare Project (Ho et al.)

Dieses Forschungsprogramm („Gene-Pare-Project“) versucht Zusammenhänge zwischen dem Vorhandensein von genetischen Risikofaktoren und den radiotherapeutisch bedingten Effekten zu identifizieren und aufzuzeigen. In den Studien analysierte man die nach der Strahlentherapie entnommenen Blutproben von etwa 2.000 Patienten/Patientinnen mit Mamma- oder Prostatakarzinom auf das Vorhandensein von verschiedenen Genvarianten. Die Gene ATM, TGFB1, XRCC1, XRCC3, SOD2 und hHR23 wurden auf das Vorhandensein von Polymorphismen untersucht, um mögliche bestehende Zusammenhänge zu analysieren.

Eine Mutation im AT-Gen und die resultierende Funktionsverminderung der DNA-Reparaturmechanismen wurden bei bestrahlten Prostatakarzinompatienten untersucht und der Zusammenhang mit einer erhöhten Radiosensitivität dargestellt.

Ebenso wurden die SNPs der Gene XRCC1 im Codon 194 und 399 und XRCC3 im Codon 241 auf vermeintliche Zusammenhänge in der Entwicklung radiogener Nebenwirkungen untersucht und auch diese konnten bestätigt werden.

Eine frühzeitige Identifikation der Patienten/innen, bei denen die gesuchten Polymorphismen nachgewiesen werden können, würde eine Filterung von gefährdeten Risikogruppen ermöglichen. Dadurch könnte man eine individualisierte und damit für den/die jeweiligen/e Patienten/Patientin eine optimale Therapie einleiten und folglich eine Minimierung radiogener Nebenwirkungen erreichen. Ebenso hätte man die Möglichkeit denjenigen Patienten/Patientinnen, bei denen keine Genvarianten gefunden werden und infolgedessen die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten schwerer Nebenwirkungen gering eingeschätzt werden kann, eine aggressivere Therapie zu verabreichen.

Somit strebt man an, mithilfe intensiver Forschungsarbeiten in Zukunft anhand von genetischen Daten der behandelten Tumorpatienten eine Optimierung der Therapie und demnach eine Schadensminimierung auf individueller Basis zu erreichen [35].

4.1.1.2 Assoziation zwischen Polymorphismen in DNA-Reparaturgenen wie XRCC1 und der Ausbildung von Strahlenspätfolgen in der Therapie von Mammakarzinompatientinnen (Chang-Claude et al.)

Die Strahlentherapie verursacht im Organismus einen Schaden der DNA und es wird eine Kaskade von den Reparaturmechanismen wie Mismatch-Repair oder Basenexzisionsreparatur eingeleitet. Man geht davon aus, dass das Vorhandensein von Polymorphismen in bestimmten Gensequenzen die Radiosensitivität beeinflussen kann. Einer Studie zufolge, in der Frauen, die als Therapie des diagnostizierten Mammakarzinoms nach brusterhaltender Operation eine Radiatio erhalten haben, auf Polymorphismen in dem DNA-Reparaturgen XRCC1 untersucht wurden, kann man von einer Assoziation eines erhöhten Risikos für das

Auftreten von radiogenen Nebenwirkungen und dem Vorhandensein von gewissen genetischen Varianten ausgehen. Die Studie zeigte, dass diejenigen Patientinnen, die sowohl das XRCC1-Gen als auch einen erhöhten BMI hatten, zur Risikogruppe für schwere Nebenwirkungen zu zählen sind. Weitere Studien sind allerdings noch notwendig, um endgültige Beweise für die beschriebenen Zusammenhänge vorweisen zu können [36].

4.1.1.3 Polymorphismen in ERCC2 (Benhamou et al.)

Die Nukleotidexzisionsreparatur ist ein essentieller Mechanismus, um genotoxische Schäden, welche beispielsweise durch UV-Strahlung oder chemische Karzinogene verursacht werden, effektiv zu reparieren und weitere Schadensentstehung einzugrenzen. ERCC2 wurde bereits auf etliche Polymorphismen untersucht, wobei im Besonderen drei zu erwähnen sind, nämlich der G→A Polymorphismus, der zu Asp312Asn führt, weiters der A→C Polymorphismus, mit Lys751Gln in Exon 23 und schließlich noch C→A, ein stiller Polymorphismus (Arg156Arg).

Im ERCC2 Protein wurden in etwa hundert Mutationen festgestellt, wobei es sich größtenteils um Punktmutationen handelt und zwei Drittel dieser sich am Carboxyl-Terminus, der unter anderem während DNA-Reparaturvorgängen mit dem p44 des TFIIH Komplexes in Kontakt tritt, befinden. Des Weiteren konnte man 17 SNPs identifizieren, wobei sechs von diesen in codierenden Exons

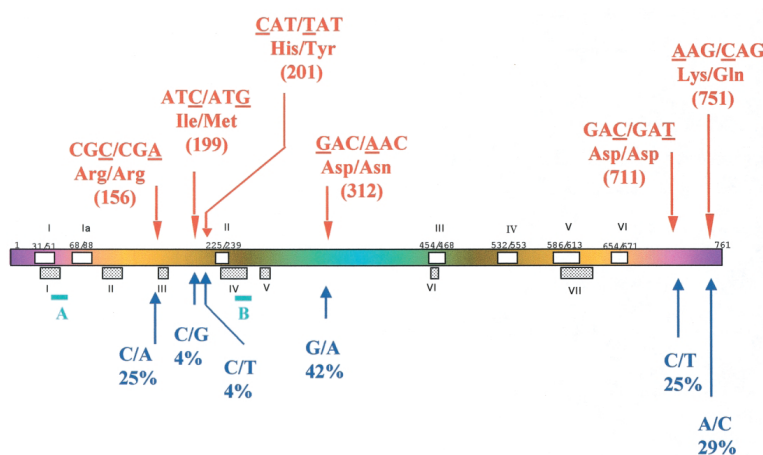


Abbildung 4-1: In der Abbildung sind die 6 bekannten SNPs des ERCC2 Proteins aufgezeigt. Nämlich C→A am Codon 156, C→G am Codon 199, C→T im Codon 201, G→A im Codon 312, C→T im Codon 711 und A→C im Codon 751[25].

und der Rest in Introns lokalisiert sind. Bei den Lokalisationen 156 und 711 handelt es sich um stille Polymorphismen, deren Häufigkeit bei etwa 25% liegt. Die restlichen Variationen entstehen durch den Austausch von Aminosäuren, wobei die einzelnen Codons folgende Veränderungen aufweisen, Methionin anstatt Isoleucin in Codon 199, Tyrosin anstatt Histidin in 201, Asparagin anstatt Asparaginsäure in 312 und Glutamin anstatt Lysin in 751. Polymorphismen der Codons 199 und 201 sind mit einer Genfrequenz von etwa 4% selten zu beobachten, diejenigen, die im genetischen Code an den Positionen 312 und 751 anzufinden sind, zeigen ein Auftreten von circa 42% und 29%. Bei diesen Genpolymorphismen geht man davon aus, dass diese in engem Zusammenhang mit einem erhöhten Krebsrisiko und einer beeinträchtigten Kapazität in der DNA-Reparatur stehen und man geht davon aus, dass dem Polymorphismus in Codon 751 die bedeutendste Rolle zukommt. Aufgrund der veränderten genetischen Sequenz kommt es zu einer Beeinträchtigung der Interaktion zwischen dem ERCC2 Protein und dem p44 innerhalb des TFIIH Komplexes, welches für die Aktivierung der Helikase des Proteins notwendig ist.

Die Untersuchung an Mammakarzinompatientinnen durch Benhamou et al. zeigte, dass der ERCC2Lys751Glu Polymorphismus in Zusammenhang mit einer verminderten Fähigkeit zur Reparatur radiogener DNA-Schäden zu sehen ist [25].

4.1.1.4 Vermutete Zusammenhänge zwischen SNPs oder Apoptoseraten von Lymphozyten und der Entwicklung schwerer radiogener Nebenwirkungen (Azria et al.)

In der Studie von Azria und Mitarbeiter sind einerseits anhand von untersuchten Blutproben die Kapazität der Apoptose von CD8 Lymphozyten analysiert worden und andererseits griff man auf Methoden zurück, um eine Aussage über das Vorhandensein von genetisch relevanten Polymorphismen machen zu können. In der Studie wurden die Patienten auf die genetischen Varianten ATM, TGFβ1, XRCC1, XRCC3, SOD2 und RAD21 untersucht und es wird vermutet, dass diese SNPs in Korrelation mit schweren Spätkomplikationen nach einer Radiotherapie gebracht werden können.

Der in dieser Arbeit untersuchte Zusammenhang zwischen dem Nachweis von multiplen Einzelnukleotidpolymorphismen und dem Auftreten von schweren radiogenen Nebenwirkungen ist aus dem Diagramm klar ersichtlich. Die einer Studie entnommenen Daten besagen, dass 94% der Patienten, das sind demnach 15 von 16, zumindest vier oder auch mehr genetische Variationen aufweisen und als beweisenden Faktor schwerwiegende Spätkomplikationen nach einer gewissen Latenzzeit infolge einer Radiotherapie aufzeigen. Im Vergleich dazu besitzen nur sechs von 18 Patienten bei der Patientengruppe, bei denen keine schweren Folgezustände vorhanden waren, demnach 33%, mehr als vier der untersuchten Polymorphismen.

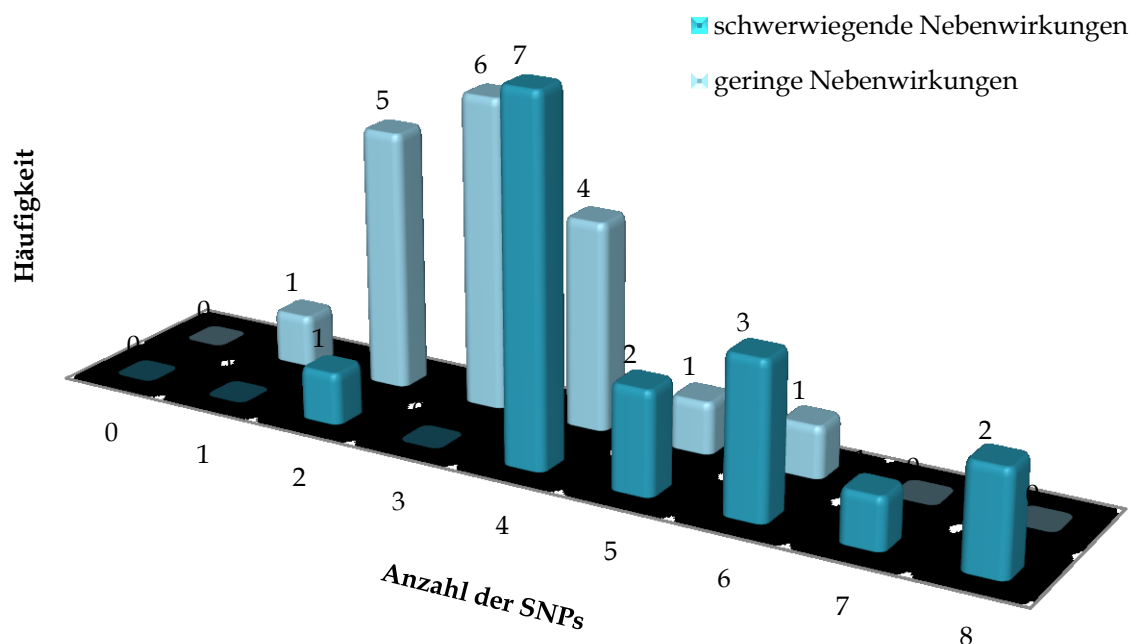


Abbildung 4-2: Ersichtlich ist der Zusammenhang zwischen der Anzahl der SNPs und der Wahrscheinlichkeit für die Entwicklung von Strahlenschäden (Daten nach [37]).

Die Ergebnisse zeigten außerdem, dass ein Anstieg des Schweregrades der Nebenwirkungen mit erniedrigten Werten der CD8-Zellen korreliert. Eine signifikante Erhöhung des Risikos für die Entwicklung von schweren Strahlenspätfolgen fand man bei Patienten, die vier oder mehr der untersuchten SNPs besaßen, im Vergleich zu denen mit weniger als vier Polymorphismen [37].

4.1.1.5 ERCC2 - Polymorphismen und ihre Auswirkungen auf die Qualität der DNA-Reparatur (Lunn et al.)

In der Studie versuchte man aufzuzeigen, dass Einzelnukleotidpolymorphismen im ERCC 2 Gen eine Funktionseinschränkung bewirken und folgenreiche Auswirkungen wie eine verminderte Reparaturkapazität von beschädigten DNA-Bestandteilen nach strahlentherapeutischer Behandlung anzutreffen sind. Untersucht wurde XPD (ERCC2) auf die Polymorphismen 199 (Ile→Met), 312 (Asp→Asn) und 751 (Lys→Gln). Allerdings war für die Studie nur eine geringe Zahl an Probanden vorhanden und somit waren zum Beispiel für Codon 199 keine Varianten für die Analyse verfügbar. Die Ergebnisse zeigten, dass die XPD Variante 312 (Asn) mit einer Häufigkeit von 0,42 und die Variante 751 (Gln) mit einer von 0,26 auftritt und man konnte somit Übereinstimmungen mit vergleichbaren früheren Studien bestätigen. Tatsächlich kam man zu dem Schluss, dass der Lys/Lys751 Genotyp im Rahmen einer Radiotherapie eine eingeschränkte Fähigkeit zur Schadensbehebung der an der DNA aufgetretenen Defekte zeigte. Laut dieser Studie kam es beim Vorhandensein des Allels Lys751 zum vermehrten Auftreten von Chromatidaberrationen, verglichen mit der Variante Gln751. Kein signifikant erhöhtes Risiko für eine suboptimale DNA-Reparatur konnte hingegen für den Asp/Asp312 Genotyp festgestellt werden [38].

4.1.1.6 Komplexes Zusammenwirken verschiedener Genvarianten und die daraus resultierende Radiosensitivität bei Prostatakarzinompatienten (Pugh et al.)

In der Untersuchung von Pugh et al. wählte man ein Patientengut, das aufgrund eines Prostatakarzinoms eine Brachytherapie, welche zu DNA-Schäden wie Doppelstrangbrüchen führt, erhalten hatte, wobei eine Unterteilung in eine Niedrig- und in eine Hochrisikogruppe vorgenommen wurde. Folglich wurde eine statistische Analyse der Gene ATM, BRCA1, ERCC2, H2AFX, LIG4, MDC1, MRE11A und RAD50 durchgeführt, um eine Korrelation dieser mit einer späten Nebenwirkungsentwicklung wie etwa akute oder späte urogenitale oder rektale Toxizität oder Verminderung oder Verlust der Potenz, zu untersuchen. In dieser Arbeit wurde davon ausgegangen, dass für die individuelle Radiosensitivität nicht nur das Vorhandensein eines genetischen Polymorphismus, sondern viel mehr ein Zusammenspiel verschiedener Gene für eine erhöhte radiogene Nebenwirkungsrate verantwortlich ist.

Tabelle 4-2: Die Tabelle enthält einen Ausschnitt der untersuchten Gene und deren Polymorphismen und eine Zuordnung in die Gruppe mit niedriger oder hoher Toxizität (Abkürzungen: A=reference allele; B=non reference allele(Tabelle nach [39])).

Gen	Aminosäureaustausch	Hohe Toxizität			Niedrige Toxizität		
		AA	AB	BB	AA	AB	BB
ERCC2	K751Q	15	5	0	18	0	0
ERCC2	D711D	18	1	0	17	0	0
ERCC2	D312N	18	0	0	17	1	0
ERCC2	R156R	18	0	0	17	1	0
LIG4	Q773Q	13	0	0	13	1	0
LIG4	D568D	16	0	0	12	1	0
LIG4	Y298H	16	0	0	12	1	0
LIG4	E95E	16	0	0	12	1	0
LIG4	T9I	9	0	0	8	1	0
LIG4	A3V	9	0	0	8	1	0

Die Ergebnisse der Genanalysen zeigten, dass ERCC2, LIG4 und MDC1, bezogen auf die untersuchten Basenpaare, die größte Anzahl an Polymorphismen aufwiesen. Nun vermutet man, dass eben diese hohe Rate an Varianten in den untersuchten Abschnitten der genannten Gene, die in verschiedenen Bereichen der DNA-Reparatur eine zentrale Rolle spielen, das Ausmaß des Toxizitätslevels mitbestimmen. Dennoch muss gesagt werden, dass die statistische Wertigkeit der Studie durch die Anzahl der Teilnehmer nur eingeschränkt geltend gemacht werden kann [39].

4.1.1.7 Identifizierung von Risikogruppen in der Strahlentherapie anhand der Genotypisierung in Kombination mit dem G2 Assay (De Ruyck et al.)

In diese Studie wurden 62 Frauen eingeschlossen, die aufgrund eines Zervix- oder eines Endometriumkarzinoms eine Radiotherapie erhalten hatten, wovon 22 Patientinnen im Laufe der Zeit schwere späte Strahlennebenwirkungen entwickelten. Der Schwerpunkt lag nun in der Untersuchungen von acht SNPs mittels PCR Analyse der DNA, gewonnen aus Lymphozyten, wobei die SNPs in den Genen XRCC1 (194Arg/Trp, 280Arg/His, 399Arg/Gln, 632Gln/Gln), XRCC3 (5'UTR 4.541A>G, IVS5-14 17.893A>G, 241Thr/Met) und OGG1 (326Ser/Cys) untersucht wurden.



Abbildung 4-3: Zu sehen ist der im G2 Assay, auch Micronucleus Assay, dargestellte Chromosomenbruch [40].

Weiters wurde anhand eines G2 Assays die Effizienz des DNA-Reparatursystems erfasst und zwar wird diese an unterschiedlichen Zeitpunkten einer sich teilenden Zelle detektiert. Eine Ineffizienz zeigt sich in einer höheren Anzahl an Chromosomen- und Chromatidbrüchen, wie in der Abbildung dargestellt ist. Durch diese Methode versucht man in weiterer Folge durch eine individualisierte Therapiegestaltung auf die von Person zu Person differierende Radiosensitivität einzugehen. Es erfolgte eine Einteilung in drei Gruppen, mit jeweils niedrigem (<1.02 breaks/cell), mittlerem (>1.02 aber <1.42) und hohem (>1.42) Risiko für eine therapieinduzierte Nebenwirkungsentwicklung, wobei die Einteilung auf der Anzahl der Brüche pro Zelle basiert. Eine statistische Signifikanz konnte dahingehend festgestellt werden, dass die Anzahl der Chromosomenbrüche bei Patienten mit schweren Nebenwirkungen deutlich höher war als bei denen ohne wesentlichem Nebenwirkungsaufreten.

Aus Vergleichen von Patienten mit und ohne Nebenwirkungen konnte man einen signifikant negativen Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein des Polymorphismus 194Arg/Trp auf dem XRCC1 Gen und dem Auftreten von Strahlenschäden in Normalgewebe nach einer durchgeführten Radiotherapie identifizieren. Varianten dieses SNPs waren lediglich bei Patienten ohne Nebenwirkungsentwicklung nachzuweisen, was einen radioprotektiven Aspekt des Trp Allels vermuten lässt.

Patients mit erheblicher Nebenwirkungsrate besaßen eine Variante des XRCC1 280His Allels, eine Variante des XRCC1 399Gln Allels und zwei Varianten des XRCC1 632Gln Alleles. Aus den Analysen geht hervor, dass SNPs an diesen Lokalisationen positiv mit einer Radiosensitivität korrelieren (OR 2.65, 1.58 und 1.78), allerdings ist dieses Ergebnis nicht als statistisch signifikant anzusehen.

Des Weiteren erfolgte eine Einteilung der Studienteilnehmer mit oder ohne negative Folgen der Strahlentherapie für den XRCC1 (280Arg/Trp, 399Arg/His, 632Gln/Gln) Genotyp, den XRCC3 (IVS5-14A>G) Genotyp und eine Kombination der Genotypen XRCC1 (280Arg/Trp, 399Arg/His, 632Gln/Gln) und XRCC3 (IVS5-14A>G). Eine $OR > 1$ für die genannten SNPs zeugt von einem Zusammenhang der Ab- oder Anwesenheit dieser mit der Nebenwirkungsrate nach einer Radiotherapie. Anhand von weiteren Forschungen konnte man eine signifikante Assoziation der klinischen Strahlenempfindlichkeit mit der Anzahl der vorhandenen Risikoallele in XRCC1 (OR, 12.60; $p=0.011$ für zwei oder mehr Risikoallele) und mit der Anzahl an Risikoallelen in XRCC1 in Kombination mit XRCC3 (OR, 10.10; $p=0.001$ für 3 oder mehr Risikoallele) bestätigen.

In einer weiteren Untersuchung kombinierte man schließlich noch die Ergebnisse der Genotypisierung und des G2 Assays, um eine Einschätzung des Nebenwirkungsrisikos der Patienten machen zu können. Daraus geht hervor, dass eine niedrige Anzahl an XRCC1 und XRCC2 Risikoallelen gemeinsam mit einem normalen G2 Score als prognostisch günstig in Hinblick auf die negativen Effekte der Radiotherapie zu werten sind. Die Ergebnisse zeigten, dass sich durch eine Verknüpfung der beiden genannten Screenings die Möglichkeit ergibt

In einer weiteren Untersuchung kombinierte man schließlich noch die Ergebnisse der Genotypisierung und des G2 Assays, um eine Einschätzung des Nebenwirkungsrisikos der Patienten machen zu können. Daraus geht hervor, dass eine niedrige Anzahl an XRCC1 und XRCC2 Risikoallelen gemeinsam mit einem normalen G2 Score als prognostisch günstig in Hinblick auf die negativen Effekte der Radiotherapie zu werten sind. Die Ergebnisse zeigten, dass sich durch eine Verknüpfung der beiden genannten Screenings die Möglichkeit ergibt

eine beträchtliche Anzahl der Risikopatienten für die Entwicklung von Strahlenschäden zu identifizieren [41].

4.1.1.8 Ergebnisse bezüglich der Polymorphismen in den Genen XRCC1 und XRCC3 und dem Auftreten von radiogenen Nebenwirkungen (Andreassen et al.)

Das Patientengut der wissenschaftlichen Arbeit von Andreassen und Mitarbeiter umfasste 41 Frauen, welche nach einer Mastektomie zusätzlich eine Radiotherapie erhalten haben. In weiterer Folge beobachtete man, ob eine Entwicklung radiogener Schäden wie subkutane Fibrose oder Teleangiektasien des gesunden Gewebes zu erkennen waren.

Die genetischen Untersuchungen umfassten PCR Analysen der Gene TGFB1, SOD2, XRCC3, XRCC1 und APEX, um erwartete Zusammenhänge zwischen den analysierten SNPs dieser und der strahleninduzierten Nebenwirkungen zu erforschen und bekräftigen. Die Auswahl der zu untersuchenden Polymorphismen erfolgte derart, dass entweder durch den Einzel-nukleotidpolymorphismus im Genprodukt ein Aminosäureaustausch ausgelöst wird, oder aber sich der SNP in einem regulatorischen Genabschnitt befindet und folgedessen Einfluss auf die Genexpression oder die Rate der Proteinsekretion hat.

Die Analysen umfassten unter anderem die in die DNA-Reparatur integrierten Gene XRCC3 und XRCC1, bei denen jeweils die SNPs in Codon 241 Thr/Met und Codon 399 Arg/Gln genauer betrachtet wurden. Da infolge einer Strahlentherapie die an der DNA entstandenen Schäden mit Hilfe von Reparaturmechanismen minimal gehalten werden können, unter der Bedingung, dass die entsprechenden Gene, die für die verschiedenen Reparaturprozesse essentielle regulatorische Bestandteile sind, ihre Aufgabe funktionsgemäß erfüllen.

Aus den Ergebnissen geht hervor, dass in Codon 241 des XRCC3 Gens der Thr/Thr Genotyp verglichen mit dem Thr/Met oder dem Met/Met Genotyp in Assoziation mit einem statistisch signifikant erhöhten Teleangiektasierisiko als Folge der Strahlentherapie steht. Ebenso ist das Vorhandensein des XRCC1 399 Arg/Arg Genotyp mit einem erhöhten Risiko für eine strahleninduzierte subkutane Fibrose des umgebenden Gewebes verbunden, jedoch gibt es keine Hinweise auf ein Risiko für Teleangiektasien [42].

4.1.1.9 Polymorphismen des XRCC1 Gens und die Auswirkungen auf die Radiosensitivität von Mammakarzinompatientinnen (Moullan et al.)

In dieser Studie wurden die drei XRCC1 Polymorphismen Arg194Trp, Arg280His und Arg399Gln im Hinblick auf ihren Zusammenhang mit der Entwicklung von schweren Strahlennebenwirkungen untersucht. Als Studienteilnehmer wählte man 354 Brustkrebspatientinnen aus, wobei 70 Patientinnen die Gruppe der radiosensitiven ausmachten, die restlichen 184 Probandinnen entwickelten hingegen keine relevanten Nebenwirkungen und zählten somit zur nicht radiosensitiven Gruppe.

Die Untersuchungen zeigten ähnliche Ergebnisse wie frühere Studien, nämlich, dass die 399Gln Variante mit einer höheren Häufigkeit (0.36 bei Kaukasiern) anzutreffen ist, 194Trp und 280His gehören hingegen zu den seltenen Polymorphismen (mit den Häufigkeiten von 0.07 und 0.05).

Man konnte ebenso eine positive Korrelation zwischen dem Vorhandensein des 280His Allels und dem Auftreten eines Mammakarzinoms feststellen, wobei diese Zusammenhänge sowohl bei der radiosensitiven als auch der nicht radiosensitiven Patientengruppe zu finden waren. Keine Assoziationen in diese Richtung konnten hingegen bei den Polymorphismen auf Codon 194 und Codon 399 gefunden werden.

Ein weiteres Ergebnis deutet darauf hin, dass das 194Trp Allel die Antwort auf eine Radiotherapie bei Mammakarzinompatientinnen in gewissem Ausmaß beeinflussen könnte, weil dieser Polymorphismus häufiger bei radiosensitiven Patientinnen (10,7%) als bei der nicht radiosensitiven Mammakarzinompatientinnen (5,7%) oder einer Kontrollgruppe anzutreffen war (6,9%). Die Häufigkeit des 194 Allels war jedoch in den beiden Gruppen (radiosensitiv/nicht radiosensitiv) die gleiche.

Ebenso konnte man bei der Betrachtung einer Kombination von Polymorphismen, dem 399Gln Allel gemeinsam mit dem homozygotem Wildtyp Allel in Codon 280 und dem Codon 194Trp Allel, beobachten, dass diese häufiger bei radiosensitiven Patientinnen als bei nicht radiosensitiven anzutreffen ist (7 von 70 versus 7 von 184).

Bei all diesen Daten ist jedoch zu berücksichtigen, dass diese eine relativ geringe Zahl an Patientinnen einschließen und demnach Studien mit größeren Fallzahlen notwendig sind, um definitivere Aussagen über die Rolle der Genpolymorphismen auf die Entstehung von Strahlenschäden machen zu können [43].

4.1.1.10 Die verabreichte Dosis im Zuge der Karzinombestrahlung in Assoziation mit genetischen Polymorphismen in DNA-Reparaturgenen als maßgebende Faktoren bei der Entwicklung von Strahlenschäden (Werbrouck et al.)

Die Studie umfasste 88 Patienten/Patientinnen, die eine IMRT aufgrund eines diagnostizierten Karzinoms im Kopf-Hals-Bereich erhalten hatten. Bei der IMRT ist man versucht gezielt den Tumor und die gefährdeten umgebenden Gewebe mit einer hohen Dosis zu bestrahlen, den umliegenden gesunden Arealen jedoch nur eine geringe Strahlungsdosis zuzufügen, um somit eine hohe Tumorkontrolle zu erzielen und minimalen Schaden an gesundem Gewebe zu verursachen. Dennoch ist man bei der Dosisapplikation zur Zerstörung des Tumors in der Therapie eingeschränkt, da jedes Gewebe nur ein bestimmtes Maß an Toleranz im Bestrahlungsfeld aufweist.

Anhand der Common Terminology Criteria for adverse events wurde das Auftreten von Nebenwirkungen evaluiert, wobei man gezielt die Entwicklung von Dysphagie, Mukositis und Dermatitis beobachtete. Zusätzlich bediente man sich Dosis-Volumen-Histogramme, um den Einfluss der Dosis auf gesundes, sensibles Gewebe aufzeigen und analysieren zu können.

Bei den Polymorphismen Ku70c.-1310CG/GG und XRCC3c.722CT/TT hat man im Zuge der Studie signifikante Ergebnisse erhalten, die zeigten, dass das Vorhandensein dieser SNPs mit einem hohen Risiko der Entwicklung einer schweren Dysphagie in Verbindung stehen. Ebenso besteht ein Zusammenhang zwischen der verwendeten Dosis und dem Auftreten einer schweren Dysphagie [44].

4.1.1.11 SNPs als Marker für ein potentielles Risiko für die Entwicklung von schweren Strahlenspätchäden im Rahmen einer Radiotherapie beim Prostatakarzinom (Damaraju et al.)

An folgender Studie waren Patienten mit lokalisiertem Adenokarzinom der Prostata beteiligt, die eine 3-DCRT im Zuge ihrer Therapie erhalten haben, wovon schließlich 83 zu weiteren Verlaufskontrollen, Blutproben und SNP-Analysen einwilligten. Bei 28 Patienten zeigte sich im Rahmen von Kontrolluntersuchungen beurteilt mittels RTOG-Score zumindest einmalig eine Toxizität > Grad 2 im Bereich der Blase oder des Rektums. Im Rahmen der genetischen Analysen wurde die DNA des Patientenkollektivs gezielt auf 49 SNPs in zwölf Genen der DNA-Reparatur und zwölf Genen der Zellsignalisierung, der Apoptose, der Membranproteine und des Steroidmetabolismus, unter anderem ATM, BRCA1, BRCA2, XRCC1, XRCC2, XRCC3, NBN, RAD51, RAD52, LIG4, BCL2, TGFB1, MLH1, MSH6, ERCC2, XPF und CYP untersucht, um das Phänomen der interindividuellen Eigenheiten in Assoziation mit polygenetischen Gegebenheiten für die Entwicklung von Komplikationen nach einer Radiotherapie, die das Normalgewebe betreffen, zu festigen. Dabei wählte man speziell solche SNPs, bei denen laut bereits veröffentlichter Arbeiten ein Zusammenhang dieser mit einem erhöhten Risiko für Strahlenschäden verzeichnet werden konnte.

Tabelle 4-3: Dargestellt sind eine Auswahl der auf SNPs analysierten Gene der Studie (Tabelle nach [45]).

Gen	SNP ID	Veränderung	Genotyp			Allelhäufigkeit	
			AA	Aa	aa	Allel 1	Allel 2
ERCC2	rs1052555	G>A, Asp711Asp	35	40	9	0.65	0.35
ERCC2	rs1052559	T>G, Gln751Lys	30	44	10	0.62	0.38
XPF	rs1799801	C>T, Ser835Ser	43	38	3	0.74	0.26
ESR1	rs1801132	C>G, Pro325Pro	48	32	4	0.76	0.24
NR3C1	rs6195	A>G, Ser363Asn	77	7	0	0.96	0.04
MLH1	rs1799977	C>T, Val219Ile	47	28	9	0.73	0.27
MSH6	rs2020910	A>T, Thr1102Thr	83	1	0	0.99	0.01
MSH6	rs1800935	T>C, Asp180Asp	45	36	3	0.75	0.25
NBN	rs1805794	G>C, Glu185Gln	31	39	14	0.60	0.40
RAD51	rs1801320	G>C, 5'UTR, NT135	69	14	1	0.90	0.10
RAD51	rs1801321	G>T, 5'UTR, NT172	28	45	11	0.60	0.40
RAD52	rs11226	C>T, 3'UTR, NT	24	39	21	0.52	0.48
TGFB1	rs1800471	G>C, Arg25Pro	71	13	0	0.92	0.08
TGFB1	rs1800469	C>T, 5'UTR, NT1347	45	32	7	0.73	0.27
XRCC1	rs1799782	C>T, Arg194Trp	70	13	1	0.91	0.09
XRCC1	rs25489	A>G, Arg280His	78	6	0	0.96	0.04
XRCC2	rs3218536	G>A, Arg188His	70	13	1	0.91	0.09
XRCC3	rs1799794	A>G, 5'UTR, NT4541	52	29	3	0.79	0.21
XRCC3	rs1799796	A>G, IVS5-14, NT17893	40	39	5	0.71	0.29

Für SNPs in XRCC3, aber auch bei anderen wie MLH1 oder LIG4 (Asp568Asp), konnte ein signifikanter Zusammenhang dieser mit einem Risiko für späte Nebenwirkungen der Blase und des Rektums (>2 Grad) vermerkt werden. Lediglich geringfügige Signifikanz konnte hingegen für ERCC2 (Asp711Asp), MSH6 (Asp180Asp), BRCA2 (Lys1132Lys) und BRCA1 (Ile1652Met) gefunden werden.

Anhand der Cox multivariate analysis konnte für SNPs in den Genen LIG4 (Asp568Asp) und ERCC2 (Asp711Asp) hohe statistische Signifikanz dokumentiert werden, wobei hier die Strahlendosis für die Blase mehr als 60 Gy betrug und 30% des gesamten Volumens des Rektums mehr als 75 Gy erhielt und das Alter der beteiligten Patienten mehr als 60 Jahre betrug.

Ein SNP des XRCC3 Gens, in einer Region, die nicht translatiert ist, nämlich der 5' Region, zeigte in der univariaten Analyse eine statistisch signifikante Assoziation hinsichtlich der Toxizität, ebenso die Mismatch-repair Gene, MSH6 und MLH1 und LIG4. Ein Polymorphismus im ERCC2 Gen (Asp711Asp) zeigte bei den untersuchten Probanden in der Statistik bezüglich der Untersuchungen auf Nebenwirkungen nach der Bestrahlung dennoch geringe Signifikanz, sowohl bei univariaten als auch bei multivariaten Analysen.

Beim Lig4 Gen, welches bei den Prozessen NHEJ und HR mit XRCC4 interagiert, zeigte ebenso ein SNP (Asp568Asp) bei der Analyse erhöhtes Radiosensitivitätsrisiko.

XRCC3 (A>G, intervening sequence) zeigte in dieser Studie keine signifikanten Daten hinsichtlich der Untersuchungen auf die Radiosensitivität, XRCC3 (A>G, 5'UTR), hingegen zeigte sich in der univariaten Analyse ein signifikantes Ergebnis.

Die Analyse der SNPs im XRCC1 Gen zeigten jedoch keine weiterführenden signifikanten Ergebnisse [45].

4.1.1.12 Korrelation von SNPs in den Genen XRCC1 und TGFβ1 mit erhöhtem Risiko für Spätkomplikationen infolge einer Radiatio bei Mammakarzinompatientinnen (Giotopoulos et al.)

In dieser Studie wurden insgesamt 167 Patientinnen aufgrund eines Mammakarzinoms im Anschluss auf eine chirurgische Tumorentfernung mit einer Standardradiotherapie (40-50 Gy) behandelt und regelmäßig kontrolliert, um etwaige späte Nebenwirkungen der Radiotherapie zu dokumentieren, wobei man anhand definierter Scores den Schweregrad der auftretenden Komplikationen, nämlich Teleangiektasien, Fibrosen und Atrophien, feststellte. 25 Patientinnen zeigten akute Nebenwirkungen, Erythem und feuchte Schuppung. Es bestätigte sich außerdem, dass Patientinnen, bei denen schon akute Nebenwirkungen vorhanden waren, ein höheres Risiko für die Entwicklung von höhergradigen späten Strahlenfolgen wie Fibrose und Atrophie, aufweisen, keine Assoziation mit akuten Nebenwirkungen zeigte die Teleangiektasie. Zusätzlich fand man heraus, dass bei einem Boost mit 15 Gy ein erhöhtes Teleangiektasierisiko besteht.

Die für die Genotypisierung entnommene DNA der Patientinnen wurden auf acht funktionelle SNPs analysiert. Untersucht wurden genetische Varianten in XRCC1 und APE-1, die Bestandteil der DNA-Reparatur sind, CX3CR1 und TGFβ1, da diese bei Entzündungsprozessen und der Fibrose eine Rolle spielen, MS und DHFR, weil diese im Folatmetabolismus eine Rolle spielen und die Epoxid Hydrolase, welche im Zusammenhang mit oxidativem Stress

steht. Signifikante Zusammenhänge mit späten Strahlenschäden konnten in dieser Arbeit für SNPs in TGFβ1 und XRCC1 gefunden werden. Demnach konnte für TGFβ1 ein signifikant erhöhtes Risiko für das Auftreten von Fibrose als Spätkomplikation, bei XRCC1 hingegen ein erhöhtes Risiko für Teleangiektasien beobachtet werden, eine Korrelation zwischen Atrophie und Genotyp war im Rahmen dieser Forschungsarbeit nicht ersichtlich.

Die Aussagekraft der Untersuchungen ist allerdings durch die Anzahl der Teilnehmerinnen limitiert, deshalb wären weitere Studien von Vorteil, die die genannten Ergebnisse bezüglich der Polymorphismen der Gene TGFβ1 und XRCC1 und ebenso die Korrelation zwischen den frühen und späten radiogenen Manifestationen (Atrophie/Fibrose) festigen [46].

4.1.1.13 Analyse möglicher Zusammenhänge von SNPs in DNA-Reparaturgenen und dem Risiko für akute Strahlenschäden (Popanda et al.)

In eine weitere Studie wurden Mammakarzinompatientinnen eingeschlossen, welche im Anschluss an eine brusterhaltende chirurgische Tumorentfernung eine Radiatio mit einer effektiven Strahlendosis von $54,0 \pm 4,8$ Gy erhalten haben. In regelmäßigen Abständen kontrollierte man das Bestrahlungsfeld auf akute Reaktionen und dokumentierte den Schweregrad der aufgetretenen Schäden.

Schließlich präsentierten von den insgesamt 446 Patientinnen 77 höhergradige akute Veränderungen der Haut, welche laut Definition zumindest eine feuchte Schuppung aufwiesen oder einen Abbruch der Bestrahlung zur Folge hatten.

Dennoch konnten keine signifikanten Ergebnisse gezeigt werden, welche die angenommenen Zusammenhänge zwischen den untersuchten SNPs in XRCC3 (Thr241Met), XRCC2 (Arg188His) und NBS1 (Glu185Gln) und der Radiotoxizität bestätigen konnten [47].

4.1.1.14 Relation zwischen SNPs und der Entwicklung von subkutaner Fibrose infolge einer primären Bestrahlung nach Mastektomie (Andreassen et al.)

Eine weitere Untersuchung von Andreassen et al. beschäftigte sich mit dem Einfluss von genetischen Polymorphismen auf das Nebenwirkungsrisiko bei Mammakarzinompatientinnen, die einer Mastektomie unterzogen worden waren und im Anschluss daran eine hypofraktionierte Radiotherapie erhalten haben.

Allerdings konnte für keinen der untersuchten Polymorphismen in den Genen TGFβ1, XRCC1, XRCC3, SOD2 oder ATM eine Signifikanz gefunden werden [48].

4.1.1.15 Signifikante Ergebnisse hinsichtlich Untersuchungen ausgewählter SNPs in SOD2, XRCC1 und XRCC3 und dem Risiko für therapiebedingte, späte radiogene Nebenwirkungen bei Patienten mit einem Adenokarzinom der Prostata (Burri et al.)

Bei dieser Arbeit versuchte man zu ermitteln, inwieweit eine Assoziation zwischen ausgesuchten SNPs und dem Auftreten von Strahlenschäden im Rahmen einer Radiatio bei Prostatakarzinompatienten gegeben ist, wobei man sich bei der Auswahl der Polymorphismen auf Ergebnisse frühere Studien stützte.

Die genetischen Analysen beschränkten sich auf Genpolymorphismen in SOD2, XRCC1 und XRCC3.

Die Studie zeigte, dass bei Patienten mit dem Genotyp XRCC1Arg280His (Genotyp G/A) ein erhöhtes Risiko für die Ausbildung einer erektilen Dysfunktion in Folge einer Bestrahlung besteht, verglichen mit denen, die den G/G Genotyp aufwiesen.

Der SNP im SOD2 Gen (T/C Genotyp; Val16Ala) brachte signifikante Ergebnisse hinsichtlich einer Korrelation desselben mit der Entwicklung rektaler Blutungen (Grad 2), verglichen mit Patienten, die einen der anderen Genotypen wie C/C oder T/T für diesen Polymorphismus besaßen.

Bei gleichzeitigem Nachweis von des SOD2 C/T und des XRCC3 T/C (Thr241Met) Genotyps konnte im direkten Vergleich mit Patienten, die nicht diese beiden Genotypen aufwiesen, eine Signifikanz bezüglich eines erhöhten Risikos für das Auftreten von späten rektalen Blutungen (Grad 2) verzeichnet werden. Auch für diese Studie muss berücksichtigt werden, dass die Zahl an eingeschlossenen Patienten relativ gering war [49].

4.1.1.16 Relevanz bestimmter Genotypen für das Auftreten von später Toxizität nach einer Radiatio bei Mammakarzinompatientinnen (Chang-Claude et al.)

Die Rolle von SNPs in Genen der DNA-Reparatur wie APEX1, XRCC1, XRCC2, XRCC3 und XPD und in solchen die in Folge der Schadensentstehung aktiv zur Behebung derselben eingeschaltet werden nämlich TP53 und P21, wurde im Bezug auf die individuell unterschiedlich gestaltete Radiosensitivität hin geprüft.

Im Laufe der Studie präsentierten sich bei 131 Patienten Teleangiektasien und bei 28 Patienten zeigte sich das klinische Bild der Fibrose.

Bei den Untersuchungen des TP53 Gens zeigte sich, dass die Polymorphismen Arg72Pro und auch PIN3, in Verbindung mit einem erhöhten Teleangiektasierisiko auftreten. Ebenso konnte bei dem haploiden Genotyp des TP53 Gens, der beide varianten Allele besitzt, eine Assoziation mit einem nahezu zweifach erhöhten Risiko für die Entstehung von Teleangiektasien belegt werden. Für die übrigen untersuchten Genvarianten konnten keine signifikanten Zusammenhänge festgestellt werden [50].

4.1.1.17 Untersuchung der DNA-Reparaturkapazität und der Nebenwirkungen der Radiotherapie bei Mammakarzinompatientinnen (Sterpone et al.)

In dieser Forschungsarbeit wollte man den Einfluss genetischer Unterschiede auf die Entwicklung von Nebenwirkungen, die durch die Radiatio bei Mammakarzinompatientinnen ausgelöst werden, analysieren und durch frühere Studien gewonnene Erkenntnisse festigen. Die klinische Radiosensitivität wurde dokumentiert, indem man bei den Patientinnen vor Beginn der Strahlentherapie, zu dem Zeitpunkt einer kumulativen Dosis von 36-42 Gy während der Therapie, am Ende der Radiatio bei etwa 60 Gy kumulativer Dosis und schließlich ein Monat nach erfolgter Bestrahlung der Brust, akute Nebenwirkungen, die im Bestrahlungsfeld zu sehen waren, festhielt.

Ein weiterer Bestandteil der Arbeit war es genetische Analysen dreier Gene hinsichtlich bestehender Polymorphismen zu untersuchen, diese waren XRCC1Arg399Gln (a G→A), OGG1Ser326Cys (a C→G) und XRCC3Thr241Met (a C→T). Die Untersuchungen zeigten einen signifikanten Zusammenhang bezüglich des Polymorphismus XRCC1Arg399Gln und dem Risiko für die Entwicklung eines Mammakarzinoms. Für die übrigen Genotypen konnten keine Zusammenhänge hinsichtlich Karzinomrisiko gefunden werden.

Bei dieser Studie untersuchte man vorerst das Maß an DNA-Schäden, die schon vor Beginn der Radiatio vorhanden waren und man konnte bestätigen, dass bei den Probandinnen mit diagnostiziertem Mammakarzinom bereits die grundlegende DNA-Schadensrate im Durchschnitt signifikant höher war als bei der gesunden Kontrollgruppe. Ebenso konnten bei der Gruppe mit Mammakarzinom sowohl gleich zu Beginn der Bestrahlung als auch nach 30 Minuten signifikant höhere Raten an DNA-Schäden verzeichnet werden, wobei diese auch nach 60 Minuten weiter über dem Level der gesunden Patientengruppe bestehen blieben. Des Weiteren konnte man im Zeitverlauf, jeweils 30 und 60 Minuten nach der Radiotherapie, eine Abnahme der DNA-Schäden beobachten, allerdings wurde bei keiner der beiden Gruppen wieder der Ausgangszustand erreicht. Zu erwähnen ist, dass sowohl bei den Karzinompatientinnen als auch bei den gesunden Personen das Ausmaß der DNA-Schäden signifikant höher war als der Ausgangswert bei der Kontrolle vor der ersten Bestrahlung. Bei den Mammakarzinompatientinnen war jedoch die Differenz dieser stets höher als bei der Kontrollgruppe.

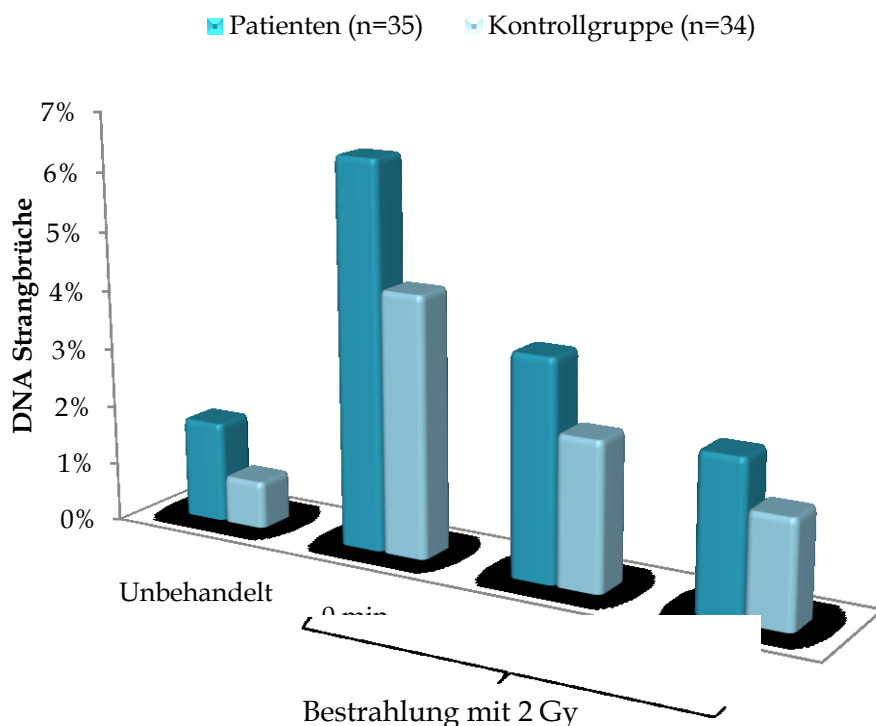


Abbildung 4-4: Die Balken zeigen einen Vergleich der DNA-Strangbrüche von Mammakarzinompatientinnen und einer Kontrollgruppe, wobei ein basaler Wert und weitere drei Werte, welche im Rahmen einer Bestrahlung beobachtet und anschließend dokumentiert wurden. [51].

Zudem fand man bei Patientinnen die keine Nebenwirkungen entwickelten 60 Minuten nach der Bestrahlung signifikant niedrigere Raten an DNA-Schäden verglichen mit den Werten, die man schon 30 Minuten nach der Behandlung vermerkt hatte. Hingegen konnte man bei denjenigen Testpersonen, die Nebenwirkungen mit Schweregraden von G1 bis G3 präsentierten, keine signifikante Verminderung der entstandenen Schäden zu den Kontrollzeitpunkten beobachten.

Zu erwähnen ist ebenso, dass bei den untersuchten Personen nach der Bestrahlung das individuelle Maß an DNA-Schäden große Differenzen aufwies, hingegen waren bei den basalen Schadensraten keine Unterschiede zu verzeichnen. Diese Daten bestärken die Theorien aktueller Forschung, die die interindividuell differierende Entwicklung von Nebenwirkungen im Rahmen der Bestrahlung auf genetischen Determinanten zurückführen.

Im Rahmen der Studie konnten jedoch keine Zusammenhänge zwischen dem Vorhandensein von den erwähnten SNPs in DNA-Reparaturgenen und dem Auftreten von akuten Nebenwirkungen nach der Bestrahlung gefunden werden [51].

5 Schlussfolgerung

Die primäre Aufgabenstellung der Arbeit lag darin, die Ursache einer individuell unterschiedlichen Radiosensitivität besser zu verstehen, indem der Zusammenhang zwischen Polymorphismen in DNA Reparaturgenen und der Entwicklung von chronischen Strahlenfolgen untersucht wird. Es wurden funktionelle Polymorphismen ausgewählt, bei denen man vermutet, dass diese einen Einfluss auf die individuell variierende DNA-Reparaturkapazität ausüben.

Die wissenschaftlichen Untersuchungen im Rahmen der durchgeführten Studie konnten zeigen, dass Patienten mit einem histologisch nachgewiesenem Prostatakarzinom, welchen infolgedessen eine dreidimensionale konformale Radiotherapie unter Verwendung einer 3-Felder Technik erhalten haben und Träger des XRCC1 Arg280His Polymorphismus sind, ein geringeres Risiko aufweisen, höhergradige, radiogene Spätnebenwirkungen zu entwickeln als Patienten, die diesen Polymorphismus nicht besitzen.

Bei Betrachtung bereits veröffentlichter Studien zeigen sich zum Teil erhebliche Unterschiede in den Ergebnissen, was die Zusammenhänge zwischen SNPs in DNA Reparaturgenen und das Auftreten von Nebenwirkungen betrifft. Nun besteht die Notwendigkeit die Forschungsarbeiten bezüglich der SNPs und ihrer protektiven Eigenschaften im Zusammenhang mit dem Risiko für die Entstehung von radiogenen Schäden fortzuführen, um die gefundenen Ergebnisse zu untermauern und die erworbene Fakten für die Entwicklung entsprechender Risikomodelle im Rahmen der Therapieplanung nutzen zu können.

Durch ein zunehmendes Erforschen und Verstehen der Einflüsse der Polymorphismen auf die Radiosensitivität, setzt man es sich als Ziel eine individualisierte, angepasste Radiotherapie, bei der ein Maß an minimaler Toxizität und dennoch höchste Effizienz der Therapie gewährleistet werden kann, um dadurch den gewünschten Therapieerfolg zu erlangen.

6 Referenzen

- [1] Zimmermann J. (2000). Hautreaktionen durch Bestrahlung: Auftreten – Therapie – Prophylaxe. Im Fokus Onkologie.
- [2] Wyler S. (2006). tellmed.ch. Mediscope, 2006. Online im Internet: http://www.tellmed.ch/tellmed/Fachliteratur/Medizinspektrum/Prostatakarzinom_eine_Erkrankung_von_zunehmender_Bedeutung.php. (09-07-16)
- [3] Statistik Austria (2009). STATISTIK AUSTRIA Die Informationsmanager. Online im Internet: http://www.statistik.at/web_de/statistiken/gesundheit/krebserkrankungen/prostata/index.html. (09-07-16)
- [4] Hautmann R, Huland H. Urologie. 3. Auflage. Berlin: Springer Medizin Verlag Heidelberg, 2006.
- [5] Robert Koch-Institut (2008). Robert Koch-Institut und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland. Krebs in Deutschland 2003-2004 - Häufigkeiten und Trends. Online im Internet: http://www.rki.de/cln_178/nn_197442/DE/Content/GBE/DachdokKrebs/KID/kid__node.html?__nnn=true (09-07-24)
- [6] Wullich B. (2002). Auf dem Weg zur maßgeschneiderten Therapie bei Prostatakarzinomen. Online im Internet: <http://www.uni-protokolle.de/nachrichten/id/5225/>. (09-07-10)
- [7] ÖGU. Österreichische Gesellschaft für Urologie und Andrologie. Medizin Medien Austria GmbH. Online im Internet: <http://www.uro.at/dynasite.cfm?dsmid=78203&dspaid=634838>. (09-06-12)
- [8] Feick G, Knye-Neczas B, Enders P. (2009). Prostatakrebstratgeber. Prostatakrebs - was nun?. Online im Internet: <http://www.prostatakrebs-ratgeber.de>. (09-06-08)
- [9] Bamberg M, Molls M, Sack H. Radioonkologie: Zuckschwerdt Verlag, 2004. Bd. 2.
- [10] Lim AJ, Brandon AH, Fiedler J, Brickman AL, Boyer CI, Raub WA Jr, Soloway MS. Quality of life: radical prostatectomy versus radiation therapy for prostate cancer. J Urol. 1995 Oct;154(4):1420-5.
- [11] Jena, Friedrich Schiller Universität. Klinikmagazin Medizinische Universität Jena. Online im Internet: <http://www.med.uni-jena.de/klinikmagazin/archiv/km204/kmonline/sprechst.htm>. (10-01-20)
- [12] Universitätsklinik für Strahlentherapie Graz.
- [13] Reiser M, Kuhn F, Debus J. Duale Reihe Radiologie. 2.Auflage. Thieme, 2006. S. 760.

- [14] Koc F. (2009). Medknowledge. Online im Internet: <http://www.medknowledge.de/neu/2005/IV-2005-49-casodex.htm>. (09-07-10)
- [15] Manski D. (2007). Urologie: medizinisches Fachgebiet für Harn- und Geschlechtsorgane. Online im Internet: http://www.urologielehrbuch.de/prostatakarzinom_10.html. (09-07-10)
- [16] Travis EL. Genetic susceptibility to late normal tissue injury. *Semin Radiat Oncol*. 2007 Apr;17(2):149-55.
- [17] Rosen EM, Fan S, Rockwell S, Goldberg ID. The molecular and cellular basis of radiosensitivity: implications for understanding how normal tissues and tumors respond to therapeutic radiation. *Cancer Invest*. 1999;17(1):56-72.
- [18] Trott K.R, Herrmann T, Dörr. *Strahlenwirkungen auf Normalgewebe*. München. Urban und Vogel, 2002.
- [19] Herrmann T, Baumann M, Dörr W. *Klinische Strahlenbiologie*. Urban & Fischer Verlag: Elsevier GmbH, 2006.
- [20] GIN Universität Innsbruck. Prostatakarzinom. Online im Internet: <http://gin.uibk.ac.at/oegro/onkologisch/prostata.html>. (09-07-15)
- [21] Alberts B et al. *Lehrbuch der Molekularen Zellbiologie*. 2. Auflage, Weinheim : Wiley-VCH, 2003.
- [22] Rihs HP, Brüning T. (2008). Mechanismen für die Reparatur der Erbsubstanz. Online im Internet: http://www.bgfa.ruhr-uni-bochum.de/pdf/BGFA-Info_0308_DNA-Reparatur.pdf. (09-06-08)
- [23] Ronen A, Glickman BW. Human DNA repair genes. *Environ Mol Mutagen*. 2001;37(3):241-83.
- [24] NCBI. Entrez Gene. Online im Internet: http://han.meduni-graz.at/han/pubmed/www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/31451?ordinalpos=1&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Gene.Gene_ResultsPanel.Gene_RVDocSum. (10-01-23)
- [25] Benhamou S, Sarasin A. Benhamou S, Sarasin A. ERCC2/XPD gene polymorphisms and cancer risk. *Mutagenesis*. 2002 Nov;17(6):463-9. 2002.
- [26] NCBI. Entrez Gene. Online im Internet: http://han.meduni-graz.at/han/pubmed/www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/13871?ordinalpos=1&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Gene.Gene_ResultsPanel.Gene_RVDocSum. (10-01-23)
- [27] Egly J.-M. TFIIF: from transcription to clinic (Review) 2001 *FEBS letters* 498 (2-3), pp. 124-128
- [28] Budman J, Chu G. Processing of DNA for nonhomologous end-joining by cell-free extract. *EMBO J*. 2005 Feb 23;24(4):849-60. Epub 2005 Feb 3.

- [29] Khanna, Kum Kum und Jackson, Stephen P. 2001. DNA double-strand breaks: signaling, repair and the cancer connection. *Nature genetics*. 2001.
- [30] NCBI. Entrez Gene. Online im Internet: http://han.meduni-graz.at/han/pubmed/www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7517?ordinalpos=1&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Gene.Gene_ResultsPanel.Gene_RVDocSum. (10-01.23)
- [31] Hess F. (2009). Internationale Praxis Dr.med. Folke Hess. Online im Internet: <http://www.internationale-praxis.de/genpolymorphismus-snips.html>. (09-06-09)
- [32] Riesenbeck D. Arbeitsgemeinschaft Nebenwirkungen & Supportivtherapie. Online im Internet: <http://www.nw-suppo.de/index.php?locid=35>. (09-12-20)
- [33] Eder T, Mayer R, Langsenlehner U, Renner W, Krippel P, Wascher TC, Pummer K, Kapp KS. Interleukin-10 [ATA] promoter haplotype and prostate cancer risk: a population-based study. *Eur J Cancer* 2007;43:472-475.
- [34] Mohrenweiser HW, Xi T, Vázquez-Matías J, Jones IM. Identification of 127 amino acid substitution variants in screening 37 DNA repair genes in humans. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002 Oct;11(10 Pt 1):1054-64.
- [35] Ho AY, Atencio DP, Peters S, Stock RG, Formenti SC, Cesaretti JA, Green S, Haffty B, Drumea K, Leitzin L, Kuten A, Azria D, Ozsahin M, Overgaard J, Andreassen CN, Trop CS, Park J, Rosenstein BS. Genetic predictors of adverse radiotherapy effects: the Gene-PARE project. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2006 Jul 1;65(3):646-55.
- [36] Chang-Claude J, Popanda O, Tan XL, Kropp S, Helmbold I, von Fournier D, Haase W, Sautter-Bihl ML, Wenz F, Schmezer P, Ambrosone CB. Association between polymorphisms in the DNA repair genes, XRCC1, APE1, and XPD and acute side effects of radiotherapy in breast cancer patients. *Clin Cancer Res*. 2005 Jul 1;11(13):4802-9.
- [37] Azria D, Ozsahin M, Kramar A, Peters S, Atencio DP, Crompton NE, Mornex F, Pèlerin A, Dubois JB, Mirimanoff RO, Rosenstein BS. Single nucleotide polymorphisms, apoptosis, and the development of severe late adverse effects after radiotherapy. *Clin Cancer Res*. 2008 Oct 1;14(19):6284-8.
- [38] Lunn RM, Helzlsouer KJ, Parshad R, Umbach DM, Harris EL, Sanford KK, Bell DA. XPD polymorphisms: effects on DNA repair proficiency. *Carcinogenesis*. 2000 Apr;21(4):551-5.
- [39] Pugh TJ, Keyes M, Barclay L, Delaney A, Krzywinski M, Thomas D, Novik K, Yang C, Agranovich A, McKenzie M, Morris WJ, Olive PL, Marra MA, Moore RA. Sequence variant discovery in DNA repair genes from radiosensitive and radiotolerant prostate brachytherapy patients. *Clin Cancer Res*. 2009 Aug 1;15(15):5008-16. Epub 2009 Jul 28.
- [40] Massey University. Institute of Molecular Biosciences. Online im Internet: http://www.massey.ac.nz/~imbs/genetic_damage_humans.htm. (09-09-19)

- [41] De Ruyck K, Van Eijkeren M, Claes K, Morthier R, De Paepe A, Vral A, De Ridder L, Thierens H. Radiation-induced damage to normal tissues after radiotherapy in patients treated for gynecologic tumors: association with single nucleotide polymorphisms in XRCC1, XRCC3, and OGG1 genes and in vitro chromosomal radiosensitivity in lymphocytes. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2005 Jul 15;62(4):1140-9.
- [42] Andreassen CN, Alsner J, Overgaard M, Overgaard J. Prediction of normal tissue radiosensitivity from polymorphisms in candidate genes. *Radiother Oncol.* 2003 Nov;69(2):127-35.
- [43] Moullan N, Cox DG, Angèle S, Romestaing P, Gérard JP, Hall J. Polymorphisms in the DNA repair gene XRCC1, breast cancer risk, and response to radiotherapy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003 Nov;12(11 Pt 1):1168-74.
- [44] Werbrouck J, De Ruyck K, Duprez F, Veldeman L, Claes K, Van Eijkeren M, Boterberg T, Willems P, Vral A, De Neve W, Thierens H. Acute normal tissue reactions in head-and-neck cancer patients treated with IMRT: influence of dose and association with genetic polymorphisms in DNA DSB repair genes. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2009 Mar 15;73(4):1187-95.
- [45] Damaraju S, Murray D, Dufour J, Carandang D, Myrehaug S, Fallone G, Field C, Greiner R, Hanson J, Cass CE, Parliament M. Association of DNA repair and steroid metabolism gene polymorphisms with clinical late toxicity in patients treated with conformal radiotherapy for prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2006 Apr 15;12(8):2545-54.
- [46] Giotopoulos G, Symonds RP, Foweraker K, Griffin M, Peat I, Osman A, Plumb M. The late radiotherapy normal tissue injury phenotypes of telangiectasia, fibrosis and atrophy in breast cancer patients have distinct genotype-dependent causes. *Br J Cancer.* 2007 Mar 26;96(6):1001-7. Epub 2007 Feb 27.
- [47] Popanda O, Tan XL, Ambrosone CB, Kropp S, Helmbold I, von Fournier D, Haase W, Sautter-Bihl ML, Wenz F, Schmezer P, Chang-Claude J. Genetic polymorphisms in the DNA double-strand break repair genes XRCC3, XRCC2, and NBS1 are not associated with acute side effects of radiotherapy in breast cancer patients. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006 May;15(5):1048-50.
- [48] Andreassen CN, Alsner J, Overgaard M, Sørensen FB, Overgaard J. Risk of radiation-induced subcutaneous fibrosis in relation to single nucleotide polymorphisms in TGFBI, SOD2, XRCC1, XRCC3, APEX and ATM--a study based on DNA from formalin fixed paraffin embedded tissue samples. *Int J Radiat Biol.* 2006 Aug;82(8):577-86.
- [49] Burri RJ, Stock RG, Cesaretti JA, Atencio DP, Peters S, Peters CA, Fan G, Stone NN, Ostrer H, Rosenstein BS. Association of single nucleotide polymorphisms in SOD2, XRCC1 and XRCC3 with susceptibility for the development of adverse effects resulting from radiotherapy for prostate cancer. *Radiat Res.* 2008 Jul;170(1):49-59.

- [50] Chang-Claude J, Ambrosone CB, Lilla C, Kropp S, Helmbold I, von Fournier D, Haase W, Sautter-Bihl ML, Wenz F, Schmezer P, Popanda O. Genetic polymorphisms in DNA repair and damage response genes and late normal tissue complications of radiotherapy for breast cancer. *Br J Cancer*. 2009 May 19;100(10):1680-6.
- [51] Sterpone S, Cornetta T, Padua L, Mastellone V, Giammarino D, Testa A, Tirindelli D, Cozzi R, Donato V. DNA repair capacity and acute radiotherapy adverse effects in Italian breast cancer patients. *Mutat Res*. 2010 Feb 3;684(1-2):43-48. Epub 2009 Dec 3.