

Aus der Klinik mit Schwerpunkt Hämatologie, Onkologie und
Tumorimmunologie am Campus Mitte
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Influence of CYP2D6 genotype on tamoxifen efficacy in advanced
breast cancer

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Jennifer Karle

aus Ludwigsfelde

Datum der Promotion: 22.06.2014

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	1
Abstract	3
Eidesstattliche Versicherung / Anteilserklärung	4
Auszug aus der Journal Summary List	6
Publikation	9
Lebenslauf	17
Publikationsliste	20
Danksagung	21

Zusammenfassung

Einleitung

Der Einfluss des *CYP2D6*-Genotyps auf die Wirksamkeit von Tamoxifen (Tam) wurde beim Mammakarzinom im Frühstadium mit widersprüchlichen Ergebnissen und großer Heterogenität bezüglich des Studiendesigns, der Methodik und der Komedikation untersucht. Allerdings gibt es bisher nur zwei Studien, die über den potenziellen Einfluss beim fortgeschrittenen Mammakarzinom berichten. Unsere Fragestellung war demnach, inwieweit die palliative Therapie mit Tam bei Patienten mit einem funktionellen *CYP2D6*-Allel wirksamer ist, als bei Individuen mit zwei funktionslosen Allelen.

Patienten und Methoden

Inkludiert wurden Patienten mit fortgeschrittenem, Hormonrezeptor-positivem (Östrogen- und / oder Progesteronrezeptoren) Mammakarzinom, die eine palliative Therapie mit Tam in Standarddosierung (20 mg/d) erhielten oder bereits erhalten hatten. Patienten mit simultaner Einnahme von *CYP2D6*-Inhibitoren wurden aus der Studie ausgeschlossen. Die genomische DNA wurde aus Vollblut (n = 51) und Formalin-fixiertem, Paraffin-eingebettetem (FFPE) Gewebe (n = 43) isoliert. In den Vollblutproben wurden die Allele *CYP2D6**2, *3, *4, *5, *6, *10, *17, *29, *41, die *CYP2D6*-Duplikation / Multiplikation sowie *CYP2D6**4 im FFPE-Gewebe bestimmt. Primärer Endpunkt war das progressionsfreie Überleben (PFS), sekundäre Endpunkte waren u.a. der klinische Nutzen (CB) und das Gesamtüberleben (OS). Die Durchführung der Genotypisierung wurde verblindet und die klinischen Daten separat analysiert.

Ergebnisse

In die Studie wurden 94 Patienten mit einem medianen Alter von 59 Jahren (29 - 90 Jahre) eingeschlossen. Bei 6 Patienten gelang keine eindeutige Genotypisierung, sodass die Proben von der weiteren Analyse ausgeschlossen wurden. Die Genotypisierung ergab folgende Ergebnisse: 1,1 % UMs, 84,1 % EMs, 3,4 % IMs und 11,4 % PMs. Patienten ohne voll funktionsfähiges Allel (IM/IM, IM/PM, PM/PM) hatten ein signifikant kürzeres PFS und OS im Vergleich zu Patienten mit mindestens einem funktionalen Allel (EM/EM, EM/IM, EM/PM) (PFS: p = 0,017; HR = 2,19, 95 %-KI, 1,15-4,18; OS: p = 0,028; HR = 2,79, 95 %-KI, 1,12-6,99). Die CB-Rate betrug 73 % für die EM-Gruppe und 38,5 % für IM + PM-Gruppe (p = 0,019).

Schlussfolgerung

Unsere Ergebnisse zeigen einen signifikanten Einfluss des *CYP2D6*-Genotyps auf die Wirksamkeit von Tam in der Behandlung des fortgeschrittenen Mammakarzinoms. Im Gegensatz zur adjuvanten Therapie ist die bisher publizierte Datenlage in der palliativen Situation kongruent. Ursachen für die widersprüchlichen Ergebnisse der adjuvanten Studien sind vermutlich auch die wesentlichen methodischen Unterschiede zwischen den Publikationen und die Auswahl des Patientenkollektivs. Unseres Erachtens sollte die Bestimmung des *CYP2D6*-Genotyps bei fortgeschrittenem Mammakarzinom vor Einleitung einer Therapie mit Tam erwogen und die gleichzeitige Einnahme von *CYP2D6*-Inhibitoren vermieden werden.

Abstract

Purpose

The influence of *CYP2D6* genotype on efficacy of tamoxifen (Tam) has been extensively analyzed in early breast cancer with conflicting results and large differences concerning study design, allelic determination and co-medication. However, there is only scarce data regarding this potential influence in advanced breast cancer (ABC). We hypothesize that Tam is more effective in patients with a functional *CYP2D6* allele than without any fully functional allele.

Patients and Methods

ABC patients with prior or ongoing palliative Tam treatment (20 mg/d) and verified positive hormone receptor status (ER and / or PR) were eligible. Comedication with *CYP2D6* inhibitors during the time that Tam was used for metastatic disease was an exclusion criterion. Genomic DNA was extracted from blood (n = 51) and formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tissue (n = 43). *CYP2D6**2, *3, *4, *5, *6, *10, *17, *29, *41, *CYP2D6* duplication and multiplication were determined in blood and *CYP2D6**4 in FFPE-tissue. Primary endpoint was progression free survival (PFS); secondary endpoints included clinical benefit (CB), and overall survival (OS). Genotyping was performed blinded and clinical data were analyzed separately.

Results

94 patients were identified with a median age of 59 y (29 - 90 y). In 6 patients genotyping did not show conclusive results and were therefore excluded from further analysis. Genotyping results were as follows: 1.1 % UMs, 84.1 % EMs, 3.4 % IMs and 11.4 % PMs. Patients without any fully functional allele (IM/IM, IM/PM, PM/PM) had a significant shorter PFS and OS compared to patients with at least one functional allele (EM/EM, EM/IM, EM/PM) (PFS: p = 0.017; HR = 2.19; 95 %-CI, 1.15-4.18; OS: p = 0.028; HR = 2.79; 95 %-CI, 1.12-6.99). The CB rate was 73 % for EM-group and 38.5 % for IM + PM-group (p = 0.019).

Conclusions

Our results show a significant influence of *CYP2D6* genotype on efficacy of Tam in the treatment of ABC. In contrast to the adjuvant setting evidence in the palliative setting is congruent. The reasons for this are probably the methodological differences and the selection of the patient population of adjuvant trials. *CYP2D6* testing in ABC should be considered and the concomitant use of *CYP2D6* inhibitors avoided.

Eidesstattliche Versicherung / Anteilserklärung

„Ich, Jennifer Karle, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:

-Influence of CYP2D6 genotype on tamoxifen efficacy in advanced breast cancer-

selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Mein Anteil an der ausgewählten Publikation entspricht dem, der in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer, angegeben ist.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Anteilserklärung an der erfolgten Publikation

Jennifer Karle hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation:

Karle J, Bolbrinker J*, Vogl S, Kreutz R, Denkert C, Eucker J, Wischnewsky M, Possinger K, Regierer AC: Influence of CYP2D6 genotype on tamoxifen efficacy in advanced breast cancer. Breast Cancer Res Treat 2013;139:553-60.

*Juliane Bolbrinker ist ebenfalls Erstautorin dieser Publikation und hat bereits promoviert.

Beitrag im Einzelnen:

- Beteiligung an Idee, Konzept und Design der Studie
- Durchsicht diverser medizinischer Datenbanken zur Identifizierung geeigneter Patienten
- Inklusion geeigneter Patienten
- Organisation der Patientenaufklärung
- Beteiligung an der Blutprobengewinnung
- Archivrecherche im Pathologischen Institut der Charité
- Selektion und Anforderung geeigneter Paraffinblöcke
- Organisation der pathologischen Begutachtung und Anfertigung der Gewebeprobe
- DNA-Isolierung aus Vollblut und Gewebe
- Durchführung von drei unterschiedlichen Methoden zur Bestimmung des *CYP2D6*-Genotyps (PCR, Real-time PCR, Präamplifikation)
- Analyse der Ergebnisse und Fehlersuche
- Optimierung der Versuchsbedingungen für die Genotypisierung des FFPE-Gewebes
- Beteiligung an der Interpretation der Ergebnisse
- Beteiligung an der Erhebung der Patientendaten
- Beteiligung an statistischer Auswertung
- Literaturrecherche
- Erstellung und Überarbeitung des Manuskripts

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers

Unterschrift der Doktorandin

Auszug aus der Journal Summary List

Das Journal „Breast Cancer Research and Treatment“ gehört zu den international führenden onkologischen Fachzeitschriften und belegt aktuell (11.06.2013) den 37. Rang (37/196). Die einzelnen Daten sind in den folgenden Tabellen aufgelistet.

Tabelle 1: ISI Web of KnowledgeSM. Marked Journal list.

Abbreviated Journal Title	ISSN	2011 Total Cites	Impact Factor	5-Year Impact Factor	Immediacy Index	2011 Articles	Cited Half-life	Eigenfactor® Score	Article Influence® Score
BREAST CANCER RES TR	0167- 6806	12507	4.431	4.351	0.955	554	4.0	0.04431	1.392

ISI Web of KnowledgeSM

Journal Citation Reports[®]



2011 JCR Science Edition

Journal Summary List

[Journal Title Changes](#)

Journals from: **subject categories ONCOLOGY** [VIEW CATEGORY SUMMARY LIST](#)

Sorted by:

Journals 1 - 20 (of 196)



Page 1 of 10



Ranking is based on your journal and sort selections.

Mark	Rank	Abbreviated Journal Title <i>(linked to journal information)</i>	ISSN	JCR Data ⁱ						Eigenfactor [®] Metrics ^j	
				Total Cites	Impact Factor	5-Year Impact Factor	Immediacy Index	Articles	Cited Half-life	Eigenfactor [®] Score	Article Influence [®] Score
<input type="checkbox"/>	1	CA-CANCER J CLIN	0007-9235	10976	101.780	67.410	21.263	19	3.8	0.04500	24.536
<input type="checkbox"/>	2	NAT REV CANCER	1474-175X	28602	37.545	38.460	4.838	68	5.8	0.12608	17.949
<input type="checkbox"/>	3	CANCER CELL	1535-6108	19726	26.566	28.174	5.045	111	5.0	0.11452	15.267
<input type="checkbox"/>	4	LANCET ONCOL	1470-2045	13237	22.589	18.730	4.848	105	3.7	0.06914	7.421
<input type="checkbox"/>	5	J CLIN ONCOL	0732-183X	120262	18.372	16.762	4.217	729	5.2	0.39463	5.560
<input type="checkbox"/>	6	J NATL CANCER I	0027-8874	35847	13.757	14.537	3.308	130	9.5	0.08069	6.188
<input type="checkbox"/>	7	NAT REV CLIN ONCOL	1759-4774	1558	11.963	12.000	3.477	65	1.9	0.00999	4.995
<input type="checkbox"/>	8	CANCER METAST REV	0167-7659	4501	10.573	10.339	0.840	50	5.3	0.01804	3.919
<input type="checkbox"/>	9	LEUKEMIA	0887-6924	17255	9.561	8.205	2.126	183	5.4	0.06764	3.329
<input type="checkbox"/>	10	BBA-REV CANCER	0304-419X	3046	9.380	9.939	1.756	41	4.7	0.01246	3.795
<input type="checkbox"/>	11	NAT CLIN PRACT ONCOL	1743-4254	1527	8.000	7.327		0	4.6	0.00869	2.822
<input type="checkbox"/>	12	CANCER RES	0008-5472	138772	7.856	8.164	1.582	749	7.5	0.36273	3.100
<input type="checkbox"/>	13	STEM CELLS	1066-5099	17241	7.781	8.612	0.990	206	4.4	0.08118	2.935
<input type="checkbox"/>	14	CLIN CANCER RES	1078-0432	60853	7.742	7.508	1.486	767	5.4	0.20597	2.538
<input type="checkbox"/>	15	J MAMMARY GLAND BIOL	1083-3021	1972	6.741	5.819	0.281	32	7.2	0.00559	2.117
<input type="checkbox"/>	16	ADV CANCER RES	0065-230X	1838	6.733	5.766	0.263	19	9.7	0.00483	2.373
<input type="checkbox"/>	17	SEMIN CANCER BIOL	1044-579X	3861	6.475	7.584	1.111	45	6.1	0.01336	2.998
<input type="checkbox"/>	18	ANN ONCOL	0923-7534	19905	6.425	5.469	1.812	372	4.9	0.06614	1.797
<input type="checkbox"/>	19	ONCOGENE	0950-9232	58176	6.373	6.889	1.777	444	7.2	0.17168	2.820
<input type="checkbox"/>	20	J PATHOL	0022-3417	13421	6.318	6.143	2.153	176	7.5	0.03406	2.232



Journals 1 - 20 (of 196)



Page 1 of 10

ISI Web of KnowledgeSM

Journal Citation Reports[®]



2011 JCR Science Edition

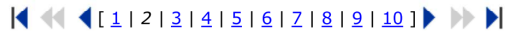
Journal Summary List

[Journal Title Changes](#)

Journals from: **subject categories ONCOLOGY** [VIEW CATEGORY SUMMARY LIST](#)

Sorted by:

Journals 21 - 40 (of 196)



Page 2 of 10



Ranking is based on your journal and sort selections.

Mark	Rank	Abbreviated Journal Title <i>(linked to journal information)</i>	ISSN	JCR Data ⁱ						Eigenfactor [®] Metrics ⁱ	
				Total Cites	Impact Factor	5-Year Impact Factor	Immediacy Index	Articles	Cited Half-life	Eigenfactor [®] Score	Article Influence [®] Score
<input type="checkbox"/>	21	CANCER TREAT REV	0305-7372	3642	6.054	5.828	1.000	67	4.2	0.01289	1.807
<input type="checkbox"/>	22	NEOPLASIA	1522-8002	5282	5.946	5.133	1.712	111	4.6	0.01965	1.693
<input type="checkbox"/>	23	NEURO-ONCOLOGY	1522-8517	3048	5.723	5.884	1.200	130	3.4	0.01253	1.935
<input type="checkbox"/>	24	CARCINOGENESIS	0143-3334	20081	5.702	5.203	0.818	242	7.7	0.04645	1.700
<input type="checkbox"/>	25	RADIOETHER ONCOL	0167-8140	10758	5.580	4.709	1.152	296	5.0	0.02558	1.155
<input type="checkbox"/>	26	EUR J CANCER	0959-8049	19134	5.536	4.781	0.817	317	6.6	0.05306	1.646
<input type="checkbox"/>	27	INT J CANCER	0020-7136	41471	5.444	4.919	1.444	603	6.7	0.11235	1.674
<input type="checkbox"/>	28	BREAST CANCER RES	1465-542X	6483	5.245	6.091	0.733	172	4.7	0.02648	2.185
<input type="checkbox"/>	29	MOL CANCER THER	1535-7163	12886	5.226	5.390	0.885	226	4.3	0.05742	1.787
<input type="checkbox"/>	30	J ENVIRON SCI HEAL C	1059-0501	396	5.160	5.623	0.250	12	4.0	0.00145	1.493
<input type="checkbox"/>	31	MOL ONCOL	1574-7891	724	5.082		1.542	48	2.6	0.00455	
<input type="checkbox"/>	32	PIGM CELL MELANOMA R	1755-1471	2854	5.059	5.106	1.135	74	6.0	0.00890	1.839
<input type="checkbox"/>	33	BRIT J CANCER	0007-0920	35335	5.042	4.955	0.749	541	7.5	0.08263	1.646
<input type="checkbox"/>	34	CANCER PREV RES	1940-6207	2068	4.908	5.181	1.423	234	2.1	0.01037	1.708
<input type="checkbox"/>	35	ONCOTARGET	1949-2553	493	4.784	4.784	1.099	121	1.3	0.00152	1.121
<input type="checkbox"/>	36	CANCER-AM CANCER SOC	0008-543X	59451	4.771	5.306	0.907	594	>10.0	0.11317	1.926
<input checked="" type="checkbox"/>	37	BREAST CANCER RES TR	0167-6806	12507	4.431	4.351	0.955	554	4.0	0.04431	1.392
<input type="checkbox"/>	38	CRIT REV ONCOL HEMAT	1040-8428	4110	4.411	4.705	0.754	114	5.7	0.01184	1.464
<input type="checkbox"/>	39	J NATL COMPR CANC NE	1540-1405	1414	4.409		0.467	75	3.0	0.00952	
<input type="checkbox"/>	40	ENDOCR-RELAT CANCER	1351-0088	3879	4.364	4.751	1.227	44	5.2	0.01503	1.659



Journals 21 - 40 (of 196)



Page 2 of 10

Publikation

Influence of CYP2D6 genotype on tamoxifen efficacy in advanced breast cancer

<http://dx.doi.org/10.1007/s10549-013-2565-3>

Lebenslauf

"Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht."

Publikationsliste

Karle J, Bolbrinker J, Vogl S, et al. Influence of CYP2D6 genotype on tamoxifen efficacy in advanced breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2013;139:553-60.

Impact Factor: 4,431

Kongressbeitrag

Regierer, A. C., Karle, J., Bolbrinker, J. et al., (2012). CYP2D6*4 genotype influences tamoxifen efficacy in advanced breast cancer. Freier Vortrag auf der Jahrestagung der Deutschen, Österreichischen und Schweizerischen Gesellschaften für Hämatologie und Onkologie, Stuttgart. Online im Internet: URL: <https://m.dgho2012.de/abstract?aid=689>.

Danksagung

Ich möchte mich herzlich bedanken bei:

Herrn Prof. Dr. med. K. Possinger, dem Direktor der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hämatologie, Onkologie und Tumorimmunologie der Charité Campus Mitte, für die Bereitstellung des Themas und die Förderung dieser Arbeit,

Herrn Prof. R. Kreutz, dem Leiter des Instituts für Klinische Pharmakologie und Toxikologie der Charité Campus Mitte, für die Möglichkeit zur Durchführung der Arbeit in seiner Forschungsgruppe,

Frau Dr. med. Anne Constanze Regierer für die engagierte Betreuung, die zahlreichen Anregungen während der Entstehung dieser Arbeit sowie für ihre Motivation und Förderung,

Frau Dr. med. Juliane Bolbrinker und Frau Dr. rer. nat. Silvia Vogl für die praktische und theoretische Einarbeitung sowie die konstruktiven fachlichen Diskussionen bezüglich der Thematik dieser Dissertation,

meiner Schwester Janine Karle für ihre methodische Beteiligung und ihr großes Engagement,

Frau Karen Böhme und Frau Sabine Weickmann für die kompetenten Hilfestellungen bei Problemen und Fragestellungen im Labor,

Herrn Jörg Johannes, Frau Anja Derlet, Herrn Bastian Maroski und Frau Dr. med. Katja Grabowski für die humorvolle und nette Arbeitsatmosphäre,

Frau Dr. med. Annette Dieing, Frau Dr. med. J. Herrenberger, Frau Dr. med. Ch. Keitel-Wittig, Herr PD Dr. med. P. Kiewe, Frau Dr. med. I. Blau sowie den Mitarbeitern der Mamma-Ambulanz der Charité Campus Mitte für die Unterstützung bei der Patientenaufklärung und der Probengewinnung,

allen Patientinnen und Patienten, die diese Studie erst ermöglicht haben,

Frau Katharina Kopetschke und Frau Katharina Schoofs für ihr offenes Ohr, die Aufmunterungen und Hilfe bei der abschließenden Fertigstellung der Arbeit,

Herrn Robert Pikulla für seine Geduld, Motivation sowie den unschätzbaren Rückhalt und nicht zuletzt meinen Eltern, die in jeglicher Hinsicht die Grundsteine für meinen Weg gelegt und mich mit aller Kraft unterstützt haben.