

Aus der Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Hämatologie/Onkologie
der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Genpolymorphismen Arzneimittel-verstoffwechselnder
Enzymsysteme bei Kindern mit Akuter Lymphoblastischer
Leukämie

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin
Berlin

von

Martina T. Mogl

aus München

Gutachter: 1. Herr Prof. Dr. med. Dr. h. c. G. Henze

2. Herr Prof. Dr. med. M. Suttorp

3. Herr Prof. Dr. med. B. Dörken

Datum der Promotion: 10.10.2007

Inhaltsverzeichnis

1.	EINLEITUNG	5
1.1	DIE AKUTE LYMPHOBLASTISCHE LEUKÄMIE (ALL)	5
1.1.1	INZIDENZ UND HEILUNGSRATE	5
1.1.2	PRÄDIKTIVE FAKTOREN DER ALL	5
1.1.2.1	PROGNOSTISCH GÜNSTIGE FAKTOREN DER ALL	6
1.1.2.2	PROGNOSTISCH UNGÜNSTIGE FAKTOREN DER ALL	7
1.1.2.3	PROGNOSTISCHE FAKTOREN BEI ALL-REZIDIVEN	7
1.2	ZYTOSTATIKA IN DER LEUKÄMIEBEHANDLUNG	9
1.3	POLYMORPHISMEN ARZNEIMITTEL-VERSTOFFWECHSELNDER ENZYMSYSTEME	10
1.3.1	PHARMAKOLOGIE	10
1.3.2	POLYMORPHISMEN	11
1.3.3	ASSOZIATION VON GENETISCHEN POLYMORPHISMEN UND KREBSRISIKO	12
1.4	CYTOCHROM P450 3A4	13
1.4.1	GEN, POLYMORPHISMUS UND INZIDENZ	13
1.4.2	GENSTRUKTUR	14
1.4.3	MEDIKAMENTENMETABOLISIERUNG UND ASSOZIATION ZU ERKRANKUNGEN	14
1.5	CYTOCHROM P450 2D6	17
1.5.1	GEN, POLYMORPHISMUS UND INZIDENZ	17
1.5.2	GENSTRUKTUR	17
1.5.3	CYP 2D6*4	18
1.5.4	CYP 2D6*3	19
1.5.5	MEDIKAMENTENMETABOLISIERUNG UND ASSOZIATION ZU ERKRANKUNGEN	19
1.6	NAD(P)H-QUINON-OXIDOREDUKTASE 1	20
1.6.1	GEN, POLYMORPHISMUS UND INZIDENZ	20
1.6.2	GENSTRUKTUR	21
1.6.3	MEDIKAMENTENMETABOLISIERUNG UND ASSOZIATION ZU ERKRANKUNGEN	22
2.	FRAGESTELLUNG DER ARBEIT	23
3.	PATIENTENPROBEN, MATERIAL UND METHODEN	25
3.1	PATIENTENKOLLEKTIV	25
3.2	MATERIALIEN	26
3.2.1	CHEMIKALIEN	26
3.2.2	NUKLEINSÄUREN	26
3.2.3	ENZYME	26
3.2.4	FILME	26
3.2.5	QUIAGENSÄULE ZUR ISOLIERUNG VON DNA	27
3.2.6	KIT ZUR REINIGUNG DER PCR-PRODUKTE	27
3.2.7	PUFFER UND LÖSUNGEN	27
3.2.7.1	LÖSUNGEN ZUR ISOLIERUNG VON DNA	27
3.2.7.2	LÖSUNGEN FÜR DIE ELEKTROPHORESE	27
3.2.7.3	PUFFER FÜR DIE PCR	28
3.2.8	GERÄTE	28
3.3	METHODIK	29
3.3.1	MOLEKULARBIOLOGISCHE ARBEITSTECHNIKEN	29
3.3.1.1	DNA-ISOLIERUNG	29
3.3.1.2	POLYMERASEKETTENREAKTION (PCR)	30
3.3.1.3	AGAROSEGELELEKTROPHORESE	33
3.3.1.4	ECHTZEIT-PCR AM LIGHTCYCLER	34
3.3.1.5	SCHMELZKURVENANALYSE AM LIGHTCYCLER	35
3.3.2	DATENANALYSE	37

4.	DURCHFÜHRUNG	38
4.1	KONVENTIONELLE PCR	38
4.1.1	PRIMERDESIGN	38
4.1.2	OPTIMIERUNGSSTRATEGIEN	39
4.1.3	NACHWEISBARE POLYMORPHISMEN	39
4.1.4	AMPLIFIKATIONSBEDINGUNGEN	39
4.2	RESTRIKTIONSENZYMVERDAU	41
4.3	SEQUENZIERUNG	42
4.4	LIGHTCYCLER-PCR	43
4.4.1	KONZEPTION DER LIGHTCYCLER-PCR	43
4.4.1.1	PRIMERDESIGN	43
4.4.1.2	OPTIMIERUNGSSTRATEGIEN	44
4.4.2	NACHWEISBARE POLYMORPHISMEN	45
4.4.2.1	DIFFERENZIERUNG DER EINZELNEN POLYMORPHISMEN AM LIGHTCYCLER	45
4.4.3	LIGHTCYCLER-PCR: AMPLIFIKATIONSBEDINGUNGEN ZUM NACHWEIS DER POLYMORPHISMEN	46
5.	ERGEBNISSE	48
5.1	NACHWEIS VON POLYMORPHISMEN DER DMS BEI ALL IM KINDESALTER	48
5.1.1	HÄUFIGKEIT DER EINZELNEN POLYMORPHISMEN	48
5.1.1.1	ALL-REZIDIVPATIENTEN	48
5.1.1.2	ALL-ERSTERKRANKUNGEN	50
5.1.1.3	KONTROLLPATIENTEN	51
5.1.2	KOMBINATION VON POLYMORPHISMEN	52
5.1.3	VERTEILUNG DER POLYMORPHISMEN BEI ALL-REZIDIVPATIENTEN	53
5.1.3.1	NICHT-CHROMOSOMALE PARAMETER	54
5.1.3.2	GENETISCHE PARAMETER	60
5.1.3.3	PERIPHERE BLASTEN- UND LEUKOZYTENZAHLE UND DAUER DER ERSTREMISSION	61
5.1.3.4	EREIGNISFREIES ÜBERLEBEN	63
6.	DISKUSSION	67
6.1	METHODISCHE ASPEKTE	69
6.1.1	BESONDERHEITEN DER LIGHTCYCLER-PCR	69
6.1.2	LIGHTCYCLER-PCR UND KONVENTIONELLE PCR MIT RFLP IM VERGLEICH	70
6.1.3	AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE	71
6.2	HÄUFIGKEIT DER POLYMORPHISMEN	71
6.3	POLYMORPHISMEN DMS BEI KINDERN MIT ALL	73
6.3.1	CYP 3A4 UND ALL	74
6.3.2	CYP 2D6 UND ALL	77
6.3.3	NQO1 UND ALL	78
7.	ZUSAMMENFASSUNG	82
8.	LITERATURVERZEICHNIS	84
9.	ANHANG	89