

6. Diskussion

Akute lymphoblastische Leukämien sind klinisch und genetisch heterogene Erkrankungen. Funktionelle Polymorphismen in Genen, die für aktivierende oder detoxifizierende Enzyme kodieren, bewirken inter-individuelle Unterschiede, die sowohl die Suszeptibilität von Leukämien als auch den Therapieerfolg von Patienten mit Leukämien beeinflussen. In zahlreichen Untersuchungen konnte bereits eine Assoziation zwischen dem Risiko, an einer malignen Erkrankung zu erkranken, und dem Genotyp von Fremdstoff- oder Medikamenten-metabolisierenden Enzymen hergestellt werden. Personen, die eine Glutathion S-Transferase (GST) -T1 null oder GSTM1 null-Variante haben, haben ein erhöhtes Leukämierisiko⁹⁹. In diesen Fällen wird ein erhöhter oxidativer Stress in hämatopoetischen Zellen als wichtiger ätiologischer Faktor akuter Leukämien betrachtet¹⁰⁰. Die Relevanz prädisponierender funktioneller Polymorphismen wird ebenfalls durch die höhere Inzidenz von GSTP1-Isoformen mit geringerer enzymatischer Aktivität bei Therapie-assoziierten (sekundären) Leukämien verdeutlicht³¹. Die Patienten hatten Zytostatika erhalten, die von GSTP1 metabolisiert werden. Im Gegensatz hierzu wird dem Cyp 3A4-v-Genotyp (bei geringerer enzymatischer Aktivität) eine schützende Funktion bei der Behandlung mit Epipodophylotoxinen zugeschrieben⁶¹. Auch der Folsäure-Metabolismus scheint bei der ALL-Prädisposition wichtig zu sein. Polymorphe Varianten des Methylentetrahydrofolat-Reduktase-Gens (MTHFR), die eine Verminderung der Aktivität bewirken, üben einen protektiven Effekt aus¹⁰¹. Die höhere Verfügbarkeit von Nukleotid-Vorstufen beim Einbau in die DNA wird für diese protektive Wirkung verantwortlich gemacht. Es wird angenommen, dass der Einbau von Uracil in die DNA einen wichtigen Mechanismus proleukämischer Veränderungen in lymphatischen Vorläuferzellen darstellt. Gleichermäßen erhöhen NQO1-Isoformen mit geringerer biologischer Aktivität das Risiko, an einer akuten Leukämie zu erkranken⁹⁴.

Neben der unterschiedlichen Prädisposition an einer Leukämie zu erkranken, konnte vor allem bei den polymorphen GST-Varianten ein Zusammenhang zwischen Therapieerfolg, Therapieintensität und Genotyp gefunden werden. Bei Kindern mit ALL, die einen GSTM1 *nonnull*-Genotyp haben und der Hochrisikogruppe (St. Jude Protokoll) zugeteilt wurden, war das Rezidivrisiko signifikant erhöht. Dieses Risiko wurde durch das simultane Vorliegen eines Thymidylat-Synthetase 3/3 Genotyps zusätzlich erhöht¹⁰².

Neben Prädisposition und Therapieerfolg von malignen Erkrankungen wird zunehmend die Bedeutung der Pharmakogenetik zur Prävention Zytostatika-bedingter Toxizität erkannt. Das

bekannteste Beispiel bilden die Thiopurinmethyltransferase (TPMT)-Polymorphismen. Eine verminderte TPMT-Aktivität, die durch verschiedene Polymorphismen im TPMT-Gen verursacht werden kann, kann eine schwere Thiopurin-Toxizität im Knochenmark bewirken. Bei bekanntem Genotyp ist eine Dosisreduktion für Patienten mit hetero- und homozygoter Mutation indiziert. Weitere bei adulten Neoplasien bekannte pharmakogenetische Beispiele sind der Polymorphismus UGT1A1*28 (Irinotecan-Toxizität) und DPYD (Fluorouracil-Toxizität).

Pharmakogenetische Untersuchungen ermöglichen die Identifizierung von Individuen, die ein hohes Toxizitätsrisiko tragen und ein geringes Ansprechen auf die Therapie mit Standarddosierung von Zytostatika aufweisen. In dieser Dissertation wurden die Prävalenz, das Rezidivrisiko und die klinische Relevanz von hereditären Polymorphismen der Enzyme Cyp 3A4 und Cyp 2D6 (Phase 1) sowie von NQO1 (Phase II) bei Kindern mit ALL-Erstrezidiv (n = 287) bestimmt. Cyp 3A4 und Cyp 2D6 wurden gewählt, da sie zum einen die am häufigsten in der Leber vorhandene Enzymsysteme darstellen und zum anderen an der Metabolisierung von über 50% der Medikamente beteiligt sind. Alle Kinder wurden gemäß den Rezidivprotokollen der BFM-Studiengruppe, ALL-REZ BFM, behandelt. Die Polymorphismen wurden durch real-time PCR und Schmelzpunktanalyse durch LightCycler-Technologie (Cyp 3A4-v, NQO1 464/609) bzw. PCR-RFLP (Cyp 2D6*3/*4) in KM/Blutproben bestimmt.

Die Frequenz von Cyp 3A4-v betrug 20 von 230 untersuchten Patientenproben bei Kindern mit ALL-Erstrezidiv, entsprechend einem Anteil von 8,7%. Die vergleichende Analyse der SNP von Kindern mit ALL-Ersterkrankung (n = 75), die in unserer Klinik, Charité, behandelt wurden, und freiwilligen Gesunden (n = 79) ergab für den Cyp 3A4-Polymorphismus eine Frequenz von 8 von 73 Proben (11%) bei den Patienten mit ALL-Ersterkrankung und drei von 70 Proben, entsprechend 4,3%, bei den Gesunden.

Die Frequenz von Cyp 2D6*3 lag bei den Kindern mit ALL-Rezidivkrankung bei 5,2%, bei Patienten mit ALL-Ersterkrankung bei 6,8% und bei Gesunden bei 1,4%. Für den Polymorphismus Cyp 2D6*4 errechneten sich für ALL-Rezidivkrankte eine Häufigkeit von 40,7%, für Ersterkrankte 45,8% und für Gesunde 34,2%.

Die entsprechenden Ergebnisse betragen für das Merkmal NQO1 609 für ALL-Rezidiv-Patienten 36,9%, für Ersterkrankte 36,5% und für Gesunde 18,9%. Beim Polymorphismus NQO1 464 schließlich zeigte sich bei den Kindern mit ALL-Rezidiv eine Frequenz von 7,4%, für Kinder mit ALL-Ersterkrankung 6,9% und für freiwillige Gesunde 2,3%.

Keine Assoziation wurde zwischen den untersuchten Polymorphismen und den klinischen Merkmalen Geschlecht, Ort des Rezidivs, Leukozytenzahl bei Diagnosestellung, Strategieguppe und dem Risiko, an einer ALL zu erkranken, gefunden. Diese Studie weist eine Verbindung

zwischen der Variante Cyp 3A4-v und dem Zeitpunkt des ALL-Rezidivs nach, wobei das Vorliegen des polymorphen Allels signifikant mit einem früheren Rezidivzeitpunkt assoziiert ist. Im Folgenden werden zuerst die methodischen Aspekte und die Besonderheiten der LightCycler-Technologie zum Nachweis von SNPs in den genannten Medikamenten-metabolisierenden Enzymsystemen diskutiert.

6.1 Methodische Aspekte

6.1.1 Besonderheiten der LightCycler-PCR

Die Möglichkeit, mit Hilfe der Echtzeit-PCR die genetischen Untersuchungen an Patientenmaterial zu ökonomisieren und gleichzeitig zu digitalisieren, stellt einen entscheidenden Vorteil dar. Da sich die Menge der zu untersuchenden DNA-Merkmale in Zukunft mit Sicherheit erhöhen wird, wäre selbst eine reine Zeit- und somit Kostenersparnis ein wesentlicher Vorteil. Doch auch die sofortige Verfügbarkeit der Ergebnisse in digitaler Form entspricht den Anforderungen an eine moderne Labordiagnostik.

Für die Entwicklung der LightCycler-PCR sind einige Besonderheiten zu beachten, die sich auf die zu untersuchenden Genabschnitte und deren Polymorphismus, sowie die entsprechenden Primer und Sonden bezieht:

- Der signalgebende Energietransfer zwischen den Hybridisierungs sonden, „fluorescence resonance energy transfer“ (FRET) genannt, funktioniert nur sicher, wenn zwischen den beiden Oligonukleotide der Abstand kleiner als 5 Nukleotide ($4-25\text{\AA}$) ist.

- Der Schmelzpunkt muss für die zu untersuchende Punktmutation einen deutlichen Temperaturunterschied zu dem der Wildtyp-DNA ergeben, z.B. $4-5^{\circ}\text{C}$, um eine eindeutige Differenzierung der Ergebnisse zu erreichen.

- Das *annealing*-Verhalten der Sonden muss sehr gut sein, um verlässlich ein Signal zu produzieren. Dies kann auch durch den Austausch einzelner Basen erreicht werden und erfolgte in Zusammenarbeit mit TIBMOBBIOL®¹⁰³.

6.1.2 LightCycler-PCR und konventionelle PCR mit RFLP im Vergleich

Für die untersuchten Punktmutationen wurde eine konventionelle PCR benutzt, die auf vorhandene Protokolle zurückgreift. Hiermit konnten die Ergebnisse der LightCycler-PCR überprüft werden.

Für die Polymorphismen Cyp 2D6*3 und Cyp 2D6*4 gelang es nicht, eine verlässliche PCR am LightCycler zu etablieren. Möglicherweise liegen die Mutationen auf Genabschnitten, die für das *annealing* von Sonden ungeeignet ist (C-/T-Gehalt), oder aber die Sonden und Primer waren ungeeignet. Allerdings wurden mehrere Primerpaare und systematisch Sonden- und PCR-Protokoll getestet, ohne eine wesentliche Verbesserung der PCR zu erreichen. Deshalb wurden die genannten Polymorphismen nur mit der konventionellen PCR und dem anschließenden Enzymverdau als RFLP untersucht. Die Ergebnisse von LightCycler-PCR und konventioneller PCR mit RFLP stimmten überein, so dass der größte Teil der Proben nur noch am LightCycler untersucht wurden.

Um die Validität der Cyp 3A4-Untersuchung zu gewährleisten, für die sich kein RFLP finden ließ, wurden einige Proben mit wt- und auch mut-DNA per Sequenzierung überprüft. Hier ließen sich die am LightCycler erstellten Ergebnisse bestätigen, so dass nur unsichere Ergebnisse hiermit überprüft wurden.

Für einige der DNA-Proben funktionierte keines der Nachweisverfahren, so dass hier von alter und unbrauchbar gewordener DNA ausgegangen werden muss. Passend dazu stammte dieses Material vor allem aus sehr alten Protokollgruppen.

Da sich für manche DNA-Proben unterschiedliche Ergebnisse in wiederholten Ansätzen zeigte, ist eine Anfälligkeit der LightCycler-PCR für unsauberes Arbeiten und unsaubere DNA-*samples* durchaus vorhanden. Hierbei ist auch die Platinum Taq-Polymerase zu nennen, die ein zügiges Arbeiten auf Eis erforderlich macht. Es scheint, dass in manchen Fällen eine zu lange Verzögerung die Polymerase zu früh aktiviert hat und dann in der PCR zu unspezifischen Ergebnissen führte.

Zusammenfassend eignet sich die LightCycler-Technologie hervorragend für *screening*-Untersuchungen, da sie einen hohen Grad an Ökonomisierung und Praktikabilität verspricht und den Anforderungen an die digitale Vorhaltung von Daten gerecht wird.

6.1.3 Auswertung der Ergebnisse

Alle Ergebnisse der untersuchten Patienten in Kontroll-, ALL-Ersterkrankungs- und -Rezidivierungsgruppe wurden im Rahmen der statistischen Auswertung berücksichtigt. Die unterschiedlichen Patientenzahlen bei einzelnen Merkmalen ist auf das Nicht-Gelingen einzelner Versuche zurückzuführen, wie oben beschrieben. Die in der Statistik erscheinenden kleineren Patientenzahlen bei verschiedenen Merkmalen, wie Immunologie, TEL-AML1, BCR-ABL-Translokation, etc. ergeben sich aus der nicht vollständigen Übereinstimmung der für das jeweilige Merkmal untersuchten Patienten in der Datenbank.

Da sich der Schwerpunkt der Untersuchung und die Referenz-Datenbank auf Kinder mit ALL-Rezidiv beziehen, konnten einige Merkmale nicht mit den Ergebnissen für Ersterkrankung in Zusammenhang gebracht werden.

6.2 Häufigkeit der Polymorphismen

Mit der konventionellen PCR-RFLP- bzw. der LightCycler-Analyse konnten die Polymorphismen Cyp 3A4-v, NQO1 464/ 609 und Cyp 2D6*3/ *4 von insgesamt 362 Kindern mit ALL (287 ALL-Erstrezidive; 75 ALL-Ersterkrankungen) sowie von 79 Gesunden genotypisiert werden. Auffallend ist die hohe Frequenz mutierter Allele der Polymorphismen NQO1 609 und Cyp 2D6*4 sowohl bei ALL-Erstrezidiv- und -Ersterkrankungspatienten als auch bei den gesunden Kontrollpatienten, wie bereits unter 6. beschrieben.

Aufgeteilt in verschiedene Immunphänotypen ergibt sich eine besondere Häufung von Cyp 3A4-v und NQO1 609 bei den T-ALL-Patienten der Rezidivgruppe (Cyp 3A4: 18,8%, NQO1 609: 45,7%). Der Polymorphismus Cyp 2D6*4 ist hingegen mit 40% bei den Patienten der B-Vorläuferzell-ALL-Gruppe häufiger vertreten, als bei Patienten mit T-ALL (34,5%). Unter Berücksichtigung aller Immunphänotypen ergibt sich bei den ALL-Erstrezidivpatienten für den Polymorphismus NQO1 609 eine Frequenz von 36,9%, für Cyp 2D6*4 von 40,7% und für Cyp 3A4-v eine Frequenz von 8,7%.

Auch in der Gruppe der Kinder mit ALL-Ersterkrankung wurde vor allem bei der B-Vorläuferzell-ALL eine hohe Frequenz des Polymorphismus NQO1 609 (43%) und Cyp 2D6*4 (53,3%) gefunden. Eine ähnliche Häufung ließ sich hier in der Gruppe der T-ALL-Patienten

nicht zeigen. Im Gesamtkollektiv der ALL-Ersterkrankten beträgt die Frequenz von NQO1 609 36,5% und von Cyp 2D6*4 45,8%.

Im Vergleich hierzu beträgt die Inzidenz des mutierten NQO1 609- bzw. Cyp 2D6*4-Allels in der Kontrollgruppe gesunder Probanden 18,9% (homozygot mutiert: 1,3%) bzw. 34,2% (homozygot mutiert 2,7%). Die in der Kontrollgruppe detektierten Mutationsfrequenzen für die homozygot mutierten Allele stimmen mit Angaben in der Literatur überein^{70, 82}. So liegt der Polymorphismus NQO1 609 bei etwa 39,5% einer kaukasischen Bevölkerungsgruppe heterozygot und bei ca. 4,4% (zwischen 1,5% und 20,3%) homozygot vor. Dies entspricht für das homozygote Vorliegen des Polymorphismus einer Allel-Frequenz von 0,22-0,45 nach der Hardy-Weinberg-Verteilung ($p^2 + 2pq + q^2$). Entsprechend läßt sich für den Polymorphismus Cyp 2D6*4 eine Frequenz für homozygote Allele von etwa 7,0% (zwischen 5,4% und 8,5%) in der kaukasischen Bevölkerung nachweisen.

Im Vergleich zur Kontrollgruppe war der variante Polymorphismus NQO1 609 sowohl bei ALL-Erstrezidiv- als auch bei -Ersterkrankungspatienten signifikant häufiger vorhanden (Erstrezidive/Kontrollen: $p = 0,002$; Ersterkrankung/ Kontrollen: $p = 0,013$). Zwischen beiden ALL-Erkrankungsstadien bestand kein statistischer Unterschied ($p = 0,530$). Hiermit bestätigt sich die bereits in anderen Studien gefundene Assoziation zwischen dem Vorliegen des Polymorphismus und der Erkrankungswahrscheinlichkeit für die ALL⁹⁴. Eine Erklärung hierfür liegt in der Funktion von NQO1 begründet: es schützt die Zelle gegen oxidativen Stress und stabilisiert darüber hinaus das Tumorsuppressor-Protein p53¹⁰⁴. So kann man spekulieren, dass die verminderte Detoxifizierungskapazität bei defektem NQO1-Allel und eine verminderte Stabilität von p53 zur Genese einer ALL beisteuert. Weitere Studien sind jedoch nötig, um den Mechanismus aufzuklären. Dass kein Unterschied zwischen ALL-Erst- und Rezidiv-erkrankungspatienten vorliegt, könnte an der kleinen Patientenzahl in der Gruppe der Patienten mit Ersterkrankung liegen. So wurde zwar ein erhöhtes Erkrankungsrisiko für therapieassoziierte myeloische Leukämien bei Patienten mit diesem Polymorphismus festgestellt, allerdings wird hierbei auf die erhöhte Suszeptibilität für Topoisomerase-II-Inhibitoren und Bestrahlungstherapie mit mutagener Wirkung hingewiesen. Dieser Mechanismus scheint im Lauf der ALL-Ersterkrankungsbehandlung keine wesentliche Rolle zu spielen und möglicherweise bedingen andere Mechanismen ein Rezidiv, bevor sich z.B. ein myeloischer Zellklon entwickeln kann.

Für den Polymorphismus Cyp 2D6*4 wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patientengruppen gefunden. Die Verteilung des Polymorphismus zwischen ALL-Erstrezidiv- und -Ersterkrankung ($p = 0,287$) sowie beider Gruppen jeweils zu den Kontrollpatienten war

nicht signifikant unterschiedlich (ALL-Erstrezidive/ Kontrollen: $p = 0,158$; ALL-Ersterkrankungen/ Kontrollen: $p = 0,094$). Dies spiegelt vermutlich die große Anzahl von Polymorphismen im Cyp 2D6-Gen mit äußerst unterschiedlicher phänotypischer Wirkung wider. Zusätzlich werden viele Medikamente durch mehrere Enzymsysteme alternativ verstoffwechselt, so dass ein Defektallel hier keine größere Auswirkung auf den Therapieerfolg haben kann. Auch die erhöhte Suszeptibilität für Leukämien ist für diesen Polymorphismus bisher nicht nachgewiesen³³.

6.3 Polymorphismen DMS bei Kindern mit ALL

Trotz sehr guter Ergebnisse bei der Behandlung von ALL im Kindesalter, erleiden 20-30% der Patienten ein Rezidiv. Das Langzeitüberleben dieser Kindern liegt nur bei 35% und ist somit wenig zufriedenstellend¹⁰⁵. Diese Ergebnisse zu verbessern steht weiterhin im Mittelpunkt der Forschung, sowohl hinsichtlich des individuellen Therapieerfolgs, als auch im Hinblick auf noch nicht bekannte Mechanismen zur Krankheits- und Rezidiventstehung.

Derzeit wird eine risikoadaptierte Behandlung mit zytotoxischen Chemotherapeutika durchgeführt, deren Intensität anhand prognostischer Faktoren aus Eigenschaften der leukämischen Zellen festgelegt ist. Zu diesen Faktoren gehören bei der Erstdiagnose der ALL die Zahl der Leukozyten und peripheren Blasten bei Diagnosestellung, Alter, Geschlecht und die Prednison-Antwort der leukämischen Zellen^{4, 5}, bei Rezidiven der Immunphänotyp, Zeitpunkt und Ort des Rezidivs, Ansprechen auf die Therapie und bei beiden Erkrankungsstufen spezielle chromosomale Parameter^{106, 9, 12}.

In den letzten Jahren zeigte sich immer deutlicher, dass auch patientenabhängige Eigenschaften zur Krankheitsentstehung beitragen, z.B. die unterschiedliche Verstoffwechslung von Karzinogenen. Dieser Mechanismus läßt sich auch auf die interindividuell unterschiedliche Verstoffwechslung von Arzneimitteln übertragen, die zu wechselndem Therapieerfolg und unterschiedlichem Nebenwirkungsspektrum führen. So ist besonders die zytotoxische Therapie von malignen Erkrankungen, wie der ALL, von einer geringen therapeutischen Breite zwischen Effektivität, Toxizität und fehlendem Behandlungserfolg geprägt. Ein Schlüssel hierzu liegt in pharmakokinetischen und pharmakogenetischen Unterschieden bei der Verstoffwechslung von Medikamenten. Die Bestimmung von Wirkstoffspiegeln im Blut ist nur eine indirekte Methode, die über die Effektivität am Zielort nur begrenzt Aussagen zuläßt und nicht für jedes Pharmakon möglich ist.

Pharmakokinetische Studien zu Dosis-Wirkungs-Beziehung und Überleben von Patienten mit ALL konnten für 6-Mercaptopurin (6-MP) und Anthracycline gezeigt werden ^{107, 108}. Die beobachteten pharmakokinetischen Unterschiede von 6-MP korrelierten mit genetischen Polymorphismen der TPMT- Gene, welche zu einer bimodalen Verteilung der Enzymaktivität führen. TPMT-variante Homozygote zeigen Störungen im 6-MP- und 6-Thioguanin (6-TG)-Metabolismus, die zu schweren, teils lebensbedrohlichen toxischen Reaktionen führen können ^{109, 110}.

Höhere AUC-Werte (*area under the curve*, Fläche unter der Kurve) durch veränderten Metabolismus für Anthracyclin sind assoziiert mit größerer Hämatotoxizität, aber auch Effektivität bei der Therapie der AML ^{111, 14}.

6.3.1 Cyp 3A4 und ALL

Die Frequenz der Allelvariante Cyp 3A4-v, bzw. Cyp 3A4*1B, schwankt zwischen 3,6 - 9,6% in der kaukasischen Population und 53 – 67% in der schwarzen Bevölkerung, bei Asiaten wird sie nicht gefunden ²³. In dieser Dissertation war die Frequenz des Polymorphismus in der Promotorregion von Cyp 3A4 in der Kontrollgruppe 4,3%, bei ALL-Ersterkrankung 11% und bei ALL-Erstrezidiv 8,7%. Obwohl bisher keine Assoziation zwischen dem Cyp 3A4-v-Genotyp und der Pharmakokinetik seiner Substrate nachgewiesen wurde, konnte eine Korrelation zwischen der Expression von Cyp 3A4 und dem Ansprechen auf einzelne Medikamente gefunden werden. Bei Patientinnen mit Brustkrebs korrelierten niedrige Cyp 3A4-mRNA-Werte im Tumor mit signifikant besseren Ansprechraten auf Docetaxel ⁵⁹. Jedoch konnte keine signifikante Assoziation zwischen der Cyp 3A4 mRNA-Expression und dem Ansprechen auf Cyclophosphamid und Epirubicin gezeigt werden.

Die Regulation der Cyp 3A4-Expression geschieht vorwiegend prätranslational, so dass die mRNA-Expression eine gute Abschätzung der enzymatischen Aktivität darstellt. Der Polymorphismus erklärt jedoch nicht die große Expressionsvariabilität von Cyp 3A4. Wie bereits beschrieben, ist das Cyp 3A4-v Allel mit einem geringeren Risiko assoziiert, an einer Therapie-assoziierten Leukämie nach Behandlung des Primärtumors mit Epipodophyllotoxinen zu erkranken ⁵⁸. Patienten mit Wildtyp-Genotyp weisen eine höhere Syntheserate von potentiell DNA-beeinträchtigenden reaktiven Zwischenstufen, als solche mit Cyp 3A4-v auf. Nach Felix et al. bewirken die mutierten Allele möglicherweise eine verminderte Produktion der

Epipodophyllotoxin-Metaboliten Katechol (2-Hydroxyphenol) und Quinone, die eine potenziell DNA-schädigende Wirkung haben ⁶¹.

Aplenc et al. konnten keine Assoziation zwischen den Cyp 3A-Varianten und einem erhöhten Rezidivrisiko von Patienten mit ALL finden ¹¹². Jedoch hatten Patienten mit Cyp 3A4-Wildtyp-Genotyp in der univariaten Analyse ein statistisch signifikant niedrigeres peripheres Neuropathie-Risiko. In einer weiteren Studie wurde keine Verbindung zwischen dem Risiko einer Therapie-assoziierten AML und dem Cyp 3A4*1B Genotyp bei Kindern gefunden, die bereits wegen einer ALL behandelt wurden ^{62, 113}.

Die Frequenz aller kodierenden SNP-Allelvarianten des Cyp 3A4 Gens ist in den meisten untersuchten Populationen niedrig und entsprechend werden selten Homozygote gefunden ⁴². Geschätzt wird, dass nur 14% der Kaukasier, 10% der Japaner und 15% der Mexikaner ein Cyp 3A4-Allel mit mindestens einer kodierenden Veränderung besitzen. Bei entsprechend niedrigen Allelhäufigkeiten ist es besonders schwierig, eine Assoziation zwischen Genotyp und Pharmakokinetik bzw. -dynamik von Cyp 3A4-Substraten herzustellen. Diese wird weiterhin durch Polymorphismen im Pregnan-X-Rezeptor (PXR) Gen, dessen Proteinprodukt die Transkription von Cyp 3A4 reguliert, erschwert. Der Einfluss des Polymorphismus im PXR-Gen auf die Cyp 3A4-Expression ist beschrieben. In der funktionellen Untersuchung von Hustert et al. zeigten mutierte Proteine eine veränderte basale und/oder induzierte Transaktivierung des Cyp 3A Promotor-Reportergens ¹¹⁴. Ebenso fanden Koyano et al. in ihren Proteinisoformen eine unterschiedliche Rate an Transaktivierungsreduktion in Abhängigkeit des PXR-Aktivators ¹¹⁵. Die Variabilität der Pharmakokinetik und -dynamik von Cyp 3A4-Substraten kann zudem durch die Kopplung zwischen Cyp 3A4- und Cyp 3A5-Polymorphismen beeinflusst werden ¹¹⁶.

In der Genkarte von Cyp 3A4 ¹¹⁷ werden eine Vielzahl von Medikamenten angegeben, die von Cyp 3A4 metabolisiert und in der Behandlung maligner Erkrankungen angewandt werden. Hierzu gehören unter anderem auch viele zur Behandlung der ALL im Kindesalter verwendete Medikamente [Glucocorticoide (Dexamethason, Prednison), ³⁹ Asparaginase] und Zytostatika [Anthrazykline (Daunorubicin), Cytarabin, Epipodophyllotoxine (VP16, Teniposid), Mercaptopurin, Methotrexat, Vincristin]. Nur wenige Studien untersuchten bisher den Zusammenhang zwischen individueller Cyp 3A4-Aktivität und Therapieerfolg bei malignen Erkrankungen. Yamamoto et al. zeigten, dass die Docetaxel-Clearance, gemessen an der Ausscheidung von 6-Beta-Hydroxycortisol, bei Patienten mit Lungenkrebs von der Cyp 3A4-Aktivität abhängt ¹⁵. Auch die lange bekannte Neurotoxizität von Vincristin bei gleichzeitiger

Verabreichung mit dem Antimykotikum Itraconazol, einem potenten Cyp 3A4-Inhibitor, zeigt den Zusammenhang zwischen Enzymaktivität und der Wirkung antineoplastischer Arzneien¹⁶. Der hier untersuchte Polymorphismus Cyp 3A4-v, die A290G-Mutation im *Nifedipin specific response element* der Cyp 3A4-Promotorregion, wurde erst in letzter Zeit hinsichtlich Expression, Aktivität und Verhalten gegenüber Enzyminhibitoren und –akzeleratoren untersucht. Einige in vitro Studien konnten keine Unterschiede zwischen dem Wildtyp- und variantem Isoenzym im Umsatz von Nifedipin, Testosteron und Erythromycin finden^{30, 34}. Klinische Studien ergaben allerdings, dass der Polymorphismus Cyp 3A4-v Überleben und Krankheitsentstehung von Patienten mit Prostatakarzinom bzw. sekundären Leukämien durch die gestörte Verstoffwechslung von Testosteron und Epipodophyllotoxinen beeinflussen kann^{28, 35}. In der Studie von Rebbeck et al. wurden fortgeschrittene Formen von metastasiertem Prostatakrebs mit dem varianten Cyp 3A4-v Allel assoziiert, möglicherweise im Zusammenhang mit Störungen des Steroidhormon-Metabolismus⁴⁶. Demgegenüber wurde der gleiche Polymorphismus mit einer niedrigeren Rate von sekundären Leukämien nach Gabe von Topoisomerase-II-Inhibitoren in Verbindung gebracht⁶¹. Stereoselektive Faktoren bestimmen die Metabolisierung ebenso, wie Interaktionen zwischen verschiedenen Cytochrom P450-Isoenzymen und anderen Proteinen^{19, 118}. Außerdem liegen einige Xenobiotika und Zytostatika als *prodrugs* vor und müssen zuerst durch andere Enzyme aktiviert werden, ehe sie durch Cyp 3A4 metabolisiert werden können^{119, 120}.

Wie bereits in der Einleitung (s. Abschnitt 1.2) ausgeführt, sind Glucocorticoide (Prednison, Dexamethason), Vincristin, Methotrexat und Cyclophosphamid Bestandteile des Therapieprotokolls der ALL-Erstbehandlung (ALL-BFM) und Cyp 3A4-Substrate. Für Patienten der Hochrisikogruppen, sowie Kinder mit ALL-Erstrezidiv, die nach dem Protokoll ALL-REZ BFM behandelt werden, sind zusätzlich die Cyp 3A4-Substrate Ifosfamid und Etoposid wichtig. Dexamethason beschleunigt den Stoffwechsel von Cyp 3A4^{19, 54}, und Oxazaphosphorine (CPM, IFO) verursachen eine Autoinduktion des Cyp 3A4-Metabolismus⁴⁹. Die ebenfalls im Protokoll enthaltene L-Asparaginase blockiert die Synthese von Proteinen^{121, 122} und reduziert vermutlich die Menge aller Isoenzyme. Bezogen auf die ALL-Erstbehandlung, bewirkt der Polymorphismus Cyp 3A4-v einerseits eine geringere initiale Aktivierung von CPM, die essenziell zur Erzeugung der zytotoxisch erst wirksamen Metabolite ist. Andererseits wird die Metabolisierung von Glucocorticoiden, Vincristin und Methotrexat verlangsamt, wodurch eine längere Wirkdauer mit höherer Toxizität erreicht wird. In der Summe scheint sich die geringere Aktivität des Proteinprodukts auf die Dauer der Erstremission prognostisch ungünstig auszuwirken.

6.3.2 Cyp 2D6 und ALL

Das Cytochrom Cyp 2D6 macht etwa 2% aller Cytochrom-P450-Enzyme aus und ist ebenfalls am Metabolismus vieler Xenobiotika beteiligt. Bei 5-10% der kaukasischen Population in Europa und Nordamerika fehlt die Cyp 2D6-Aktivität vollständig¹²³. Das Cyp 2D6-Gen ist eines der am besten untersuchten menschlichen Cyp-Enzyme. Die Anzahl der varianten Allele reicht von *1 (Wildtyp) bis *51; 26 sind Nullallele und 6 Allele kodieren für Enzyme mit verminderter Aktivität (*poor metabolizer*, PM). Weiterhin sind Genduplikationen für eine ultra-schnelle Cyp 2D6 Metabolisierung (*extensive metabolizer*, EM) verantwortlich. Die häufigsten Allele in der kaukasischen Bevölkerung sind Cyp 2D6*3, *4, *5 und *6. Keine dieser vier Varianten kodiert für funktionell aktives Cyp 2D6.

Während Cyp 2D6 am Metabolismus vieler gängiger Medikamente, wie Antiarrhythmika, Antidepressiva, Antiemetika und Codein beteiligt ist, spielt es bei der Verstoffwechslung zytotoxischer Chemotherapeutika eher eine untergeordnete Rolle. Eine Verbindung zwischen Cyp 2D6-Polymorphismus und medikamentös-toxischen Leberschäden lässt sich nicht nachweisen¹²⁴. Allerdings konnte eine Assoziation zwischen EM und einem erhöhten Leukämieerkrankungsrisiko bei Erwachsenen hergestellt werden. Sie beruht offenbar auf der erhöhten metabolischen Aktivierung von Karzinogenen. Es gelang allerdings bisher nicht, diese Assoziation auch auf Kinder mit ALL zu übertragen^{22, 23}.

In einigen epidemiologischen Studien wurde die Assoziation zwischen Cyp 2D6 und der Häufigkeit von Leukämien und Lymphomen erhoben. Lemos et al. publizierten, dass der EM-Typ mit zwei funktionellen Cyp 2D6-Allelen bei einer Gruppe von Erwachsenen mit Leukämie (22 ALL, 13 CLL, 18 AML, 11 CML) häufiger war, als in der Kontrollgruppe (n = 128). Es wurden keine Unterschiede zu den Gruppen der Hodgkin- und non-Hodgkin-Lymphome (25 bzw. 71 Patienten) festgestellt¹²⁵. Zusätzlich lässt die gleichzeitig erhöhte Inzidenz von homozygoten EM mit Cyp 2D6-Mutation und schnellen Acetylierern mit NAT2-Mutation einen synergistischen Effekt beider Genotypen in der Leukämogenese vermuten. Demgegenüber gelang es Krajnovich et al. zwar, eine erhöhte Inzidenz von Cyp 1A1- und GSTM1-Varianten bei Kindern mit ALL zu finden, jedoch konnte der PM-Genotyp von Cyp 2D6 nicht als weiterer Risikofaktor identifiziert werden³³.

Für Erwachsene konnte eine Assoziation zwischen dem PM-Phänotyp von Cyp 2D6 und der Entwicklung von ALL und AML gefunden werden. Interessanterweise existierte in der

untersuchten Patientengruppe ein erhöhtes Erkrankungsrisiko für Patienten mit AML, die älter als 40 Jahre waren ¹²⁶. Es bleibt abzuwarten, ob der Einfluss der Varianten im Cyp 2D6-Genlocus auf die Karzinogenese noch genauer definiert werden kann. Auch in dieser Arbeit gelang kein signifikanter Nachweis eines Einflusses von Cyp 2D6*3 oder Cyp 2D6*4 auf die Erkrankungswahrscheinlichkeit oder den Erkrankungsverlauf bei Kindern mit ALL-Ersterkrankung oder -Erstrezidiv. Dieser schwache Einfluss von Cyp 2D6 spiegelt den geringen Anteil von 2% am Gesamt-Cytochromgehalt des Menschen wider.

6.3.3 NQO1 und ALL

Die NAD(P)H-Quinon-Oxidoreduktase (NQO1) ist ein induzierbares zytoplasmatisches Phase II-Enzym, das die 2-Elektronreduktion von Quinonen katalysiert, wodurch deren Beteiligung an oxidativen Schäden verhindert wird. Quinone sind in Benzol- und Flavonoid-haltigen Substanzen vorhanden, die eine ätiologische Relevanz bei Leukämien im Kindesalter haben ¹²⁷. Die zwei beschriebenen Polymorphismen im NQO1-Gen, T464C und C609T, führen zu den Aminosäureaustauschen Arg139Trp, bzw. Pro187Ser. Beide Varianten beeinflussen die Enzymfunktion und bedingen eine verminderte bzw. fehlende Enzymaktivität. Neben der Funktion als Radikalfänger durch den Metabolismus von Quinonen und Vitamin E verstoffwechselt NQO1 auch Azofarbstoffe, Menadione und Benzol-Verbindungen. Seine Expression wird sowohl durch UV-B-Strahlung, als auch Acrolein, welches stark toxisch wirkt, gesteigert und verdeutlicht seine Wirksamkeit als Zellschutz. Die Induktion von NQO1 und nachfolgende Entgiftung des im Cyp 3A4-Metabolismus aus CPM bzw. IFO entstehenden Acrolein, wird durch das Vorliegen der NQO1-Varianten deutlich vermindert und verstärkt den Zellschaden. Bei gleichzeitigem Vorhandensein von Cyp 3A4-v, welches eine langsamere Aktivierung von CPM mit verminderten Wirkstoffspiegel und verkürzter Wirkdauer bedingt, potenzieren sich die Effekte. Dieser Zusammenhang war in der vorliegenden Untersuchung nicht signifikant, allerdings war im untersuchten Patientengut diese Kombination häufig vertreten mit 8 Patienten aus der Rezidiv-Gruppe und drei Patienten aus der Gruppe der Kinder mit Ersterkrankung, bei den Kontrollpatienten ließ sich diese Kombination nicht nachweisen (s. Abschnitt 5.1.2).

NQO1 katalysiert auch die Aktivierung von Prokarzinogenen, wie heterozyklischen Aminen und nitroaromatischen Molekülen, die im Zigarettenrauch zu finden sind, und wird durch diese induziert. Der NQO1 609-Polymorphismus, der mit einer reduzierten bis fehlenden

Enzymaktivität einhergeht, wurde entsprechend mit einem verringertem Erkrankungsrisiko für Lungenkrebs assoziiert ⁸⁸.

Eine weitere wichtige Funktion besteht in der Entgiftung von Benzol und seinen Metaboliten, die stark hämatotoxisch und leukämogen sind. Interessanterweise konnte bei homozygoten Merkmalsträgern keine, bei Heterozygoten nur eine verminderte Induktion von NQO1 im Knochenmark durch Hydroquinone erreicht werden. Dies erklärt die signifikante Zunahme der Erkrankungswahrscheinlichkeit von AML und MDS bei Arbeitern mit Benzolvergiftung, die homozygot für NQO1-609 waren ⁷⁷.

In einigen Studien wurde die Auswirkung des NQO1-Polymorphismus durch die Beeinträchtigung der detoxifizierenden Wirkung von NQO1 auf eine erhöhte Suszeptibilität, an einer Leukämie zu erkranken, untersucht. Trotz gewisser Diskrepanzen in der Literatur wurde eine signifikante Assoziation zwischen NQO1-Polymorphismus und ALL im Kindesalter in mehreren Studien repliziert. Alle Studien untersuchten den Einfluss des Polymorphismus NQO1 609 in Populationen europäischer Herkunft, nur zwei untersuchten auch die Variante NQO1 464. Eine Verbindung zwischen dem Allel NQO1 609 und dem ALL-Risiko scheint besonders bei Säuglingsleukämien mit MLL-Genrekombinationen deutlich zu sein. Gleichwohl wurde auch eine ähnliche Korrelation bei ALL im Säuglings- und Kindesalter ohne MLL-Fusion gefunden.

So berichten Wiemels et al., dass das NQO1 609-Allel signifikant mit ALL im Kindesalter mit MLL-Fusion assoziiert ist ⁹². Die Studie von Larson et al. zeigte, dass die Frequenz desselben Allels signifikant bei Therapie-assoziiierter AML mit Veränderungen von Chromosom 5 und/oder 7 erhöht war, aber nicht bei denen mit balancierter Translokation, klonalen Abnormalitäten oder normalen Karyotypen ⁹⁵. Auch Smith et al. fanden eine signifikant höhere Inzidenz des NQO1-Polymorphismus bei Erwachsenen mit de novo ALL und AML. Insbesondere Patienten mit Translokationen [t(15;17) und t(8;21)] sowie Inversionen [inv(16)] oder (partieller) Deletion von Chromosom 5 und 7] zeigten eine reduzierte oder fehlende NQO1-Aktivität ⁹⁶. Diesen Erkenntnissen steht eine Studie von Blanco et al. gegenüber, die weder eine Assoziation zwischen NQO1-609 und der Entwicklung therapieassoziiierter AML nach ALL-Therapie herstellen konnte, noch einen Zusammenhang zur MLL-Translokation bei diesen Patienten ⁶². Auch das Risiko für Erwachsene, an einer ALL zu erkranken steigt mit dem Vorliegen der NQO1 609-Mutation ^{96, 128}.

Sekundäre Leukämien nach Therapieprotokollen mit alkylierenden Substanzen und Radiotherapie gehen mit Verlust oder Deletion von Chromosom 5 und/oder 7 einher, während sekundäre Leukämien nach Therapie mit Topoisomerase-II-Inhibitoren durch balancierte Translokationen charakterisiert sind, wie die MLL- oder AML1-Rekombination. Erstere zeigen

eine ähnlich Häufung der NQO1 609-Mutation, wie sie auch für Arbeiter mit Benzolvergiftung gefunden wurde. Besonders Homozygote, deren Enzym inaktiv ist, scheinen für die leukämogene Wirkung der Chemotherapeutika vulnerabel zu sein^{95, 129}.

Kinder mit ALL oder AML, die das MLL-Fusionsgen tragen, haben eine signifikant erhöhte Inzidenz von NQO1-Mutationen im Vergleich zu Kindern mit ALL und TEL/AML1-Fusion (Translokation t(12;21)) oder Hyperdiploidie. Dies erklärt sich durch die Tatsache, dass Substanzen, die mit der Topoisomerase-II spaltbare Komplexe bilden, eine MLL-Fusion induzieren können. Wenn nun zusätzlich der Abbau dieser Substanzen durch die NQO1-Mutation verzögert ist, ergibt sich zwangsläufig eine erhöhte Inzidenz von Leukämien mit MLL-Fusion und gleichzeitigen NQO1-Polymorphismen. Die ebenfalls durch CYP3A4 erfolgende Metabolisierung von Epipodophyllotoxinen kann im Mutterleib und ersten Lebensjahr nur eine untergeordnete Rolle spielen, da erst später CYP3A4 in relevanten Konzentrationen exprimiert wird. Zu den infrage kommenden Substanzen, die schon vor der Geburt eine MLL-Fusion induzieren könnten, gehören Flavonoide, Benzol, möglicherweise auch Pestizide, Marihuana, Alkohol oder Benzindämpfe, obwohl bei letzteren bisher keine Untersuchung über den Zusammenhang zur MLL-Fusion existiert⁹².

In diesem Zusammenhang wird das NQO1 609-Allel fast ausschließlich genannt, jedoch haben Wiemels et al. auch die Bedeutung von NQO1 464 untersucht, ohne eine relevante Assoziation zu den genannten Zusammenhängen zu erkennen. Die Autoren schließen daraus, dass die Mutation keinen relevanten Einfluss auf die Enzymaktivität besitzt⁹². Die Bedeutung des Allels NQO1 464 beim Menschen bleibt weiterhin wenig untersucht.

Auch im Rahmen dieser Dissertation war der NQO1 464-Polymorphismus weder bei Kindern mit einer ALL-Ersterkrankung, noch bei Kindern mit einer Rezidiv-ALL mit einem der untersuchten Merkmale signifikant assoziiert. Allerdings scheinen Kinder mit BVZ-ALL, die den Polymorphismus NQO1 464 tragen, zum Zeitpunkt der Ersterkrankung jünger zu sein. Weiterhin zeigt sich eine Tendenz für Patienten mit NQO1 464-Allel zu größerer Blastenzahl zum Zeitpunkt der Diagnose, als für Patienten mit dem Wildtyp-Allel. Für die Patienten mit BVZ-ALL, die beide Polymorphismen NQO1 609 und NQO1 464 gleichzeitig tragen, ergibt sich eine tendenziell kürzere Remissionsdauer, diese Zahlen erreichen jedoch keine statistische Signifikanz. Auch für die untersuchten Rezidivpatienten ergibt sich für keines der Merkmale bezogen auf den NQO1-Polymorphismus ein signifikanter Unterschied.

Folgende Aspekte müssen für eine generelle Schlussfolgerung beachtet werden: Bei der Auswertung der Assoziationsanalysen müssen beide NQO1-Polymorphismen und die

verschiedenen Frequenzen in unterschiedlichen Populationen berücksichtigt werden. Die genaue Analyse zeigt, dass nur für die NQO1 609-Variante eine Assoziation zwischen ALL und MLL-Rekombination besteht. Zum besseren Verständnis des Beitrags der entsprechenden NQO1-Aktivität in der Leukämogenese ist es erforderlich, deren Mechanismus weiter aufzuklären. Ebenso ist die weitere Spezifizierung der Exposition von Quinon-enthaltenden Substanzen und von Umwelteinflüssen auf die NQO1-assoziierte Leukämie-Suszeptibilität mit und ohne MLL-Rekombination unabdingbar.

7. Zusammenfassung

Akute lymphoblastische Leukämien sind klinisch und genetisch heterogene Erkrankungen. Funktionelle Polymorphismen in Genen, die für aktivierende oder detoxifizierende Enzyme kodieren, bewirken inter-individuelle Unterschiede, die sowohl die Suszeptibilität von Leukämien als auch den Therapieerfolg von Patienten mit Leukämien beeinflussen.

Diese Arbeit analysiert die Relevanz der Polymorphismen Cyp 3A4-v, Cyp 2D6*3, Cyp 2D6*4, NQO1 464 und NQO1 609. Für die Polymorphismen Cyp 3A4-v, NQO1 464 und NQO1 609 konnte die Etablierung einer Echtzeit-PCR mit dem LightCycler realisiert werden. Diese Ökonomisierung der Methodik repräsentiert einen entscheidenden Fortschritt in der Durchführung von Screening-Untersuchungen für große Patientengruppen. Die Polymorphismen Cyp 2D6*3 und Cyp 2D6*4 wurden mit Hilfe der konventionellen PCR mit Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus untersucht. Insgesamt wurden 287 Kinder mit Erstrezidiv einer ALL, sowie 75 Kinder mit ALL-Ersterkrankung und 79 Kontrollpatienten für alle fünf Polymorphismen analysiert.

Bei 11% der Kinder mit ALL-Ersterkrankung konnte der Genotyp Cyp 3A4-v nachgewiesen werden. Es zeigte sich keinerlei Zusammenhang zwischen Cyp 3A4-v-Status und Immunphänotyp, Leukozytenzahl oder Anzahl peripherer Blasten bei Patienten mit ALL-Erstdiagnose. Um den Einfluss des Cyp 3A4-Genotyps auf den Heilungserfolg beim ALL-Erstrezidiv zu prüfen, wurden bei der statistischen Auswertung bekannte signifikante Prognosefaktoren berücksichtigt^{7,9,11}. Die getrennte Analyse nach ALL-Immunphänotyp (non-T bzw. T) zum Zeitpunkt des Erstrezidivs ergab in der Gruppe der non-T-ALL-Erstrezidivpatienten eine statistisch signifikante Assoziation zwischen dem Polymorphismus Cyp 3A4-v und dem Zeitpunkt des Rezidivs ($p = 0,014$). Die höhere Prävalenz der Variante Cyp 3A4-v in der Gruppe mit (sehr) frühem Rezidiv (bzw. Rezidiv während der Erhaltungstherapie) lässt der damit einhergehenden geringeren katalytischen Aktivität von Cyp 3A4 in der Aktivierung und Verstoffwechslung von in der ALL-Erstbehandlung angewandten Medikamenten eine besondere Bedeutung zukommen. Ein Unterschied im Langzeitüberleben ließ sich für diesen Polymorphismus nicht bestimmen ($p = 0,2088$).

Der Polymorphismus NQO1 609 war bei Patienten mit ALL-Ersterkrankung und ALL-Rezidiv signifikant häufiger vorhanden, als bei den Kontrollpatienten ($p = 0,002$ bzw. $0,013$). Dies bestätigt den Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein des Polymorphismus und erhöhter Erkrankungswahrscheinlichkeit für ALL. Für den Polymorphismus NQO1 464 konnte diese Assoziation nicht bestätigt werden. In Bezug auf den Krankheitsverlauf waren keine

signifikanten Ergebnisse zu ermitteln, das Langzeitüberleben wird nicht durch das Vorhandensein der Polymorphismen beeinflusst.

Für den Polymorphismus Cyp 2D6*4 wurden keine signifikanten Unterschiede gefunden. Die Verteilung des Polymorphismus zwischen ALL-Erstrezidiv- und -Ersterkrankung ($p = 0,287$) sowie beider Gruppen jeweils zu den Kontrollpatienten war nicht signifikant unterschiedlich (ALL-Erstrezidive/ Kontrollen: $p = 0,158$; ALL-Ersterkrankungen/ Kontrollen: $p = 0,094$). Dies spiegelt vermutlich die große Anzahl von Polymorphismen im Cyp 2D6-Gen mit äußerst unterschiedlicher phänotypischer Wirkung wider. Für die untersuchten Polymorphismen Cyp 2D6*3 und Cyp 2D6*4 konnte kein signifikanter Einfluss auf den Erkrankungsverlauf dargestellt werden.

Um die Bedeutung der Ergebnisse in den klinischen Zusammenhang einzuordnen, müssen sie mit dem Behandlungsverlauf der Patienten korreliert werden. Im Rahmen der protokollgerechten Behandlung der ALL-Rezidivpatienten ergaben sich unterschiedliche Nebenwirkungen, die zum Teil den Behandlungsverlauf beeinflussten. Diese Toxizitätsdaten wurden nicht mit den vorliegenden Zahlen korreliert, da sie zum Zeitpunkt der Analyse zum Teil nicht vollständig waren. Erst die Zusammenschau der Polymorphismusergebnisse mit den klinischen Daten kann eine endgültige Aussage zur klinischen Relevanz ergeben. Dennoch wird die zunehmende Bedeutung genetischer Unterschiede in Krankheitsentstehung, individuellem Krankheitsverlauf und unterschiedlichem Therapieansprechen durch diese Arbeit deutlich.

Die Zukunft der optimalen Behandlung schwerer Erkrankungen liegt in der individualisierten Therapie. Diese sollte sowohl die genetische Ausstattung der Patienten, als auch die molekularen Details im Krankheitsmechanismus berücksichtigen.

Martina Mogl