
1 Einleitung

1.1 Das Larynxkarzinom

1.1.1 Häufigkeit, Lokalisation und Pathologie

Das Larynxkarzinom stellt mit einem Anteil von 1-2% aller bösartigen Tumoren eine relativ seltene Tumorentität in Mitteleuropa dar (Jahnke, 1995). Dennoch ist es das häufigste aller Malignome des oberen Atmungs- und Verdauungstraktes (Maier und Tisch, 1997). Etwa 52 000 neue Fälle werden in Europa jährlich diagnostiziert, von denen 90% bei männlichen Patienten auftreten. Die Inzidenzraten bei Männern in Süd- und Nordeuropa bewegen sich zwischen 18 pro 100 000 und 6 pro 100 000. Bei Frauen beträgt die Inzidenzrate nicht mehr als 1,5 pro 100 000 (Licitra et al., 2003).

Die meisten der malignen Tumoren des Larynx sind Plattenepithelkarzinome, die an Grenzzonen zwischen Platten- und Zylinderepithel oder in metaplastischem Schleimhautepithel entstehen. Andere Larynxkarzinome wie z.B. das verruköse und das anaplastische Karzinom sind mit 1-2% aller bösartigen Larynxtumoren sehr selten. Dem Larynxkarzinom vorangehende Präkanzerosen zeigen sich klinisch oft als Verhornungen oder so genannte „Leuko- und Erythroplakien“ (Jahnke, 1995).

Abhängig von der anatomischen Region werden supra-/epiglottische, glottische und subglottische Larynxkarzinome unterschieden. Von der Lokalisation des Tumors im Kehlkopf hängt unter anderem die Ausbreitungstendenz ab. Glottische Larynxkarzinome sind mit einem Anteil von 65% die häufigsten Tumoren vor den supraglottischen (33%) und den subglottischen (~1%) (Jahnke, 1995). Diese Verteilung unterliegt nach Licitra und Mitarbeitern geographischen Unterschieden. So überwiegt im südlichen Europa das supraglottische gegenüber dem glottischen Larynxkarzinom, während das Gegenteil für den nordwestlichen Teil Europas der Fall ist (Licitra et al., 2003). Auch die Prognose hängt mit der Lokalisation des Karzinoms und der hieraus resultierenden unterschiedlichen Symptomatologie zusammen. Während Heiserkeit als typisches Erstsymptom des glottischen Karzinoms eine Frühdiagnose und damit frühzeitige therapeutische Konsequenzen erlaubt, werden supra- bzw. epiglottische Karzinome aufgrund unspezifischerer Symptomatiken oft erst später erkannt (Jahnke, 1995).

1.1.2 Risikofaktoren

Die Ätiologie der Kehlkopfkarzinome ist seit Jahren Gegenstand der Diskussion einer Vielzahl von epidemiologischen Studien. Neben Alter und Geschlecht konnten mehrere Risikofaktoren mit der Entstehung von Larynxkarzinomen assoziiert werden. Zweifelsfrei steht fest, dass es sich bei der Karzinogenese im oberen Atmungs- und Verdauungstrakt um ein multifaktorielles Geschehen handelt, bei dem nachfolgend aufgeführte exogene und endogene Risikofaktoren eine wesentliche Rolle spielen (Maier et al., 2002).

Es besteht weithin Übereinkunft darüber, dass das Rauchen einen der beiden wichtigsten exogenen Risikofaktoren für das Larynxkarzinom darstellt. Etwa 4800 Inhaltsstoffe des Tabakrauches wurden bisher identifiziert. Von diesen werden 81 zu den humanen Karzinogenen gezählt (Smith et al., 2003a), wie z.B. Nitrosamine und polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe. In mehreren Studien wurde eine dosisabhängige Risikosteigerung für Kehlkopfkrebs bei Rauchern festgestellt (Maier et al., 1992a; Maier und Tisch, 1997). Demnach haben Raucher mit mehr als 50 Packungsjahren (PJ) ein bis zu 9,5-fach erhöhtes Risiko, an einem Larynxkarzinom zu erkranken (Maier und Tisch, 1997).

Seit Jahrzehnten wird auch ein Zusammenhang zwischen Larynxkarzinomen und dem chronischen Konsum von Alkohol beobachtet. Längst ist bewiesen, dass er als unabhängiger exogener Risikofaktor für die Entstehung von Kehlkopfkrebs zu bewerten ist (IARC, 1988; Maier und Tisch, 1997; Smith et al., 2003a) und – ebenso wie das Rauchen – einen dosisabhängigen Einfluss auf die Höhe des Risikos besitzt. Bei kombiniertem Konsum von sowohl Tabak als auch Alkohol, wie er bei der Mehrzahl der Betroffenen vorliegt, steigt das Risiko überadditiv an (Maier et al., 1992a; Smith et al., 2003a).

Als weiterer Risikofaktor gilt die meist berufliche Exposition gegenüber Schadstoffen wie Asbest- und Zementstaub und polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (Maier et al., 2002). Infektionen mit dem humanen Papillomavirus (HPV) Typ 16, 18, 31 und 33 werden ebenfalls mit einem erhöhten Risiko für die Entstehung von Larynxkarzinomen in Zusammenhang gebracht (Almadori et al., 2002; Syrjänen, 2005). Darüber hinaus konnte in Fall-Kontroll-Studien gezeigt werden, dass chronischer gastroösophagealer Reflux das Risiko erhöht, an Kehlkopfkrebs zu erkranken (El-Serag et al., 2001; Wight et al., 2003). Eine chronisch hyperplastische Laryngitis tritt häufig zusammen mit einem Kehlkopfkarzinom auf, wird aber für dessen Entstehung lediglich als begünstigender Faktor angesehen (Zimmermann, 2003). Auch ernährungsbedingte Faktoren wurden in epidemiologischen Studien hinsichtlich ihres Einflusses

auf die Entwicklung eines Larynxkarzinoms untersucht. So sind der Mangel an Vitamin C, Vitamin E, Carotinen und Folsäure mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko an Larynxkarzinomen assoziiert (Bidoli et al., 2003).

Einige epidemiologische Faktoren scheinen Einfluss auf das Vorkommen von Larynxkarzinomen zu haben: In den früheren Heidelberger Fall-Kontroll-Studien war aufgefallen, dass Patienten mit Mundhöhlen-, Rachen- oder Kehlkopfkarzinomen die Schul- und Berufsausbildung auf einem niedrigeren Niveau abgeschlossen hatten als die Kontrollen. Dies stellt somit zumindest einen indirekten Risikofaktor für Kopf- und Halskarzinome dar (Maier et al., 2002).

Obwohl unbenommen bleibt, dass Tabak- und Alkoholkonsum die beiden wichtigsten exogenen Risikofaktoren sind, erkranken bekanntlich viele Personen trotz des ausgiebigen Konsums dieser Genussgifte nicht an einem Larynxkarzinom. Umgekehrt wird bei einigen Patienten die Diagnose schon in jungen Jahren oder trotz des geringen bzw. fehlenden Konsums der genannten Giftstoffe gestellt. Diese Beobachtungen, genauso wie die Unterschiede bei Inzidenz und Mortalität von Larynxkarzinomen in verschiedenen ethnischen Gruppen (Boyle et al., 1992), weisen auf genetische Faktoren bei der Kehlkopfkrebsentstehung hin.

Interindividuelle Unterschiede in der Empfindlichkeit gegenüber der Erkrankung an Tabakrauch-assoziierten Karzinomen werden in den letzten Jahren zunehmend mit Genvariationen von Fremdstoff-metabolisierenden Enzymen (Brockmöller et al., 1993; Cascorbi et al., 1996; Henning et al., 1999; Jahnke et al., 1996; Matthias et al., 1999; Roots et al., 1992) und DNA-Reparaturenzymen (Dietz, 2002; Mohrenweiser und Jones, 1998; Sturgis et al., 2002) in Zusammenhang gebracht.

1.2 Mehrstufenkonzept der Krebsentstehung

Das heute allgemein anerkannte Mehrstufenkonzept der Krebsentstehung geht von einer mehrschrittigen Transformation gesunder Zellen zu malignem Tumorgewebe aus. Die einzelnen Phasen dieses Vorganges werden als Initiation, Promotion und Progression bezeichnet (Marquardt, 2004).

Die Initiation einer Zelle resultiert aus deren Exposition gegenüber endogenen oder exogenen genotoxischen Noxen chemischer, physikalischer oder biologischer Art bzw. aus bereits ererbten Mutationen. Die Initiation kann sehr schnell nach Exposition gegenüber Kanzerogenen erfolgen, betrifft aber nur proliferationsfähige Zellen, die besonders in der späten G1- und frühen S-Phase des Zellzyklus empfindlich für die initiierende Wirkung von Kanzerogenen sind. Ein

wesentliches Charakteristikum der Initiation ist ihre Irreversibilität durch persistierende DNA-Schädigung, die aber noch kein autonomes Wachstum – also noch keine Krebsentstehung – hervorruft. Zwischen der Initiation und der nächsten Phase, der Promotion, können lange Latenzphasen liegen. Tumorpromovierende Reize nehmen Einfluss auf Wachstum und Differenzierung initiiertter Zellen und interagieren mit den Regulatoren der zellulären Signalwege. Dies führt zu selektiver Proliferation und klonaler Expansion der genotypisch und phänotypisch veränderten initiierten Zellen. Die Umwandlung der Präneoplasien in maligne Tumoren mit uneingeschränktem Wachstumspotential erfolgt erst im Stadium der Progression. Deren Hauptursache ist die genetische Instabilität, die durch Entstehung von Mutationen beschleunigt wird, die nicht adäquat durch DNA-Reparaturenzyme repariert werden. Hierbei bedeutsam ist vor allem Verlust, Mutation oder Inaktivität von Genen, die an DNA-Reparaturprozessen beteiligt sind (Marquardt, 2004).

1.2.1 Chemische Karzinogenese

Chemische Karzinogene können durch ihre mutagene Wirkung auf die DNA in allen drei Stufen der Tumorentstehung krebsfördernd wirken. Die große Zahl der inzwischen bekannten chemischen Karzinogene kann in zwei Gruppen eingeteilt werden: DNA-reaktive, genotoxische Substanzen und so genannte epigenetische nicht-genotoxische Substanzen. Zur Gruppe der genotoxischen Substanzen gehören solche, die direkt, d.h. ohne vorherige metabolische Aktivierung, kanzerogen wirken (z.B. halogenierte Kohlenwasserstoffe, Epoxide und Nitrosoharnstoff-Derivate) und die so genannten indirekten Kanzerogene, die erst nach metabolischer Aktivierung ihre krebsfördernde Wirkung entfalten. In diese letztgenannte große Gruppe gehören auch die Benz[*a*]pyrene, karzinogene Vertreter der polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe (PAK). Diese Umweltkanzerogene entstehen bei Verbrennungs- und Schwelungsprozessen. Eine der Hauptquellen für die Exposition gegenüber diesen Substanzen und gleichzeitig einer der beiden Hauptrisikofaktoren für das Larynxkarzinom ist der Tabakrauch, in dem 280 polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe nachgewiesen wurden. Auch Lebensmittel, die geröstet, gebraten, frittiert, gebacken oder geräuchert sind, enthalten PAK. Die polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe wirken sowohl lokal an der Haut als auch systemisch kanzerogen. Sie werden in einem mehrstufigen metabolischen Prozess zu Dihydrodiol-Epoxiden giftig, die mit DNA zu kovalenten Addukten reagieren können. Diese stabilen DNA-Addukte führen zur Hemmung der DNA-Synthese, Zellzyklusstörungen, zu Zelltod, Mutagenese und in der Summe zu malignen Transformationen und können nur durch DNA-Reparatur entfernt werden. Auch Acetaldehyd – der Primärmetabolit von Ethanol – kann

zur Bildung von DNA-Addukten führen (Brooks und Theruvathu, 2005). Je nach Art des Kanzerogens variiert die Menge der gebildeten stabilen DNA-Addukte. Es gibt Orte innerhalb des Genoms, an denen verstärkt DNA-Addukte gebildet werden. Hierzu gehört z.B. der Genort des Tumorsuppressorgens p53, das neben seiner Zellzyklus-regulierenden Funktion auch Einfluss auf die DNA-Reparatur nimmt (Marquardt, 2004).

1.3 DNA-Reparatur

Die DNA lebender Organismen ist ständig schädigenden Einflüssen durch exogene und endogene Noxen ausgesetzt. Persistierende DNA-Schäden können langfristig zu Mutationen, Genominstabilität und zur Entstehung von Krebserkrankungen führen (Benhamou und Sarasin, 2000). Es ist daher überlebenswichtig, dass die Integrität der genomischen DNA über die Zellteilungen hinweg erhalten bleibt. Dies wird unter anderem durch die Aktivität mehrerer DNA-Reparaturenzymsysteme gewährleistet, die in der Lage sind, verschiedene Formen von DNA-Schäden zu erkennen und zu reparieren. Die Form dieser Läsionen hängt dabei von den physikalischen bzw. chemischen Eigenschaften der genotoxischen Agenzien ab. Es werden vier Arten von DNA-Reparaturvorgängen unterschieden, die durch das sequentielle Zusammenwirken einer Vielzahl von Reparaturenzymen charakterisiert sind. Jedes dieser Enzymsysteme repariert spezifische Klassen von DNA-Schäden, wobei einzelne Reparaturenzyme an verschiedenen Vorgängen beteiligt sein können. Die Enzymkaskade des *nucleotide excision repair* (NER) steht im Zentrum des Interesses dieser Arbeit, weil sie für die Beseitigung der durch Benz[*a*]pyrene und Acetaldehyd verursachten DNA-Addukte entscheidend ist. Besonders für Larynxkarzinompatienten, die mehrheitlich chronisch diesen Noxen ausgesetzt sind, ist dieses DNA-Reparatursystem von großer Bedeutung. (Mohrenweiser und Jones, 1998). Die untenstehende Abbildung gibt einen Überblick über die durch unterschiedliche Noxen hervorgerufenen DNA-Schäden sowie die an deren Reparatur beteiligten DNA-Reparatursysteme (Abbildung 1).

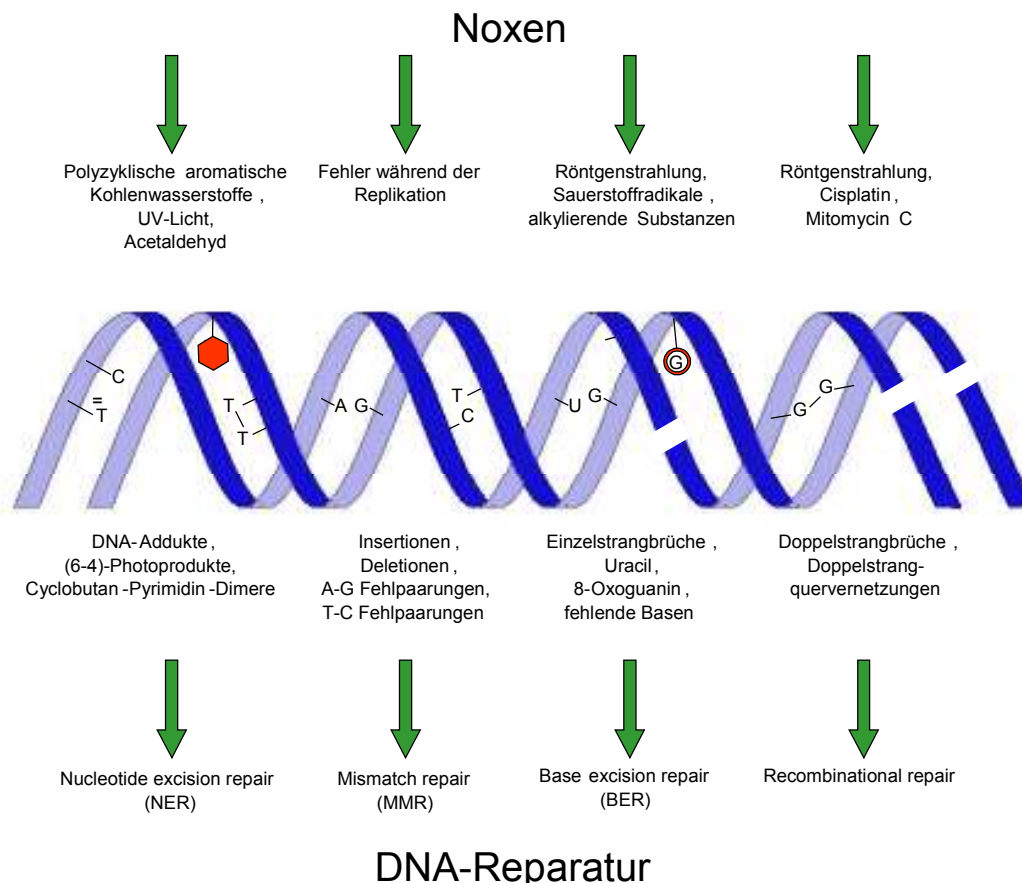


Abbildung 1: DNA-Schäden und -Reparaturmechanismen; modifiziert nach Hoeijmakers (Hoeijmakers, 2001).

Die Enzymkaskade des so genannten *mismatch repair* (MMR) entfernt und korrigiert Insertionen und Deletionen sowie einzelne, meist während der DNA-Replikation fehlgepaarte Nukleotide, aus dem DNA-Doppelstrang. *Base excision repair* (BER) ist ein Reparaturvorgang, bei dem einzelne vorwiegend durch Oxidation, Methylierung oder Deaminierung veränderte Basen mithilfe einer DNA-Glycosylase vom Desoxyribose-Phosphat-Rückgrat der DNA getrennt werden. Die entstandene Lücke wird anschließend mit der adäquaten Base geschlossen. Doppelstrangquervernetzungen und DNA-Doppelstrangbrüche, die direkt durch ionisierende Strahlung oder indirekt durch inkomplette Reparatur anderer DNA-Schäden entstehen, werden durch *recombinational repair* beseitigt. Die Reparaturenzyme, die am *nucleotide excision repair* (NER) beteiligt sind, entfernen sowohl durch UV-Strahlung induzierte DNA-Schäden wie z.B. Pyrimidin-Dimere, als auch sperrige DNA-Addukte (so genannte *bulky adducts*). Letztere entstehen u.a. nach Exposition gegenüber polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (Friedberg, 2001; Hu et al., 2002) und Acetaldehyd (Brooks und Theruvathu, 2005).

Auf die Funktionsweise der NER, die an ihr beteiligten Reparaturenzyme, und die Gruppe der durch sie beseitigten DNA-Schäden wird im folgenden Abschnitt näher eingegangen.

1.3.1 Nucleotide excision repair (NER)

In Eukaryonten ist *nucleotide excision repair* (NER) ein vielseitiges und hochkonserviertes Reparatursystem zur Beseitigung einer Vielzahl von DNA-Schäden, die die Struktur der DNA-Doppelhelix verändern. Dazu gehören durch UV-Licht induzierte Cyclobutan-Pyrimidin-Dimere (CPD) und 6-4-Photoprodukte (6-4-PP) sowie sperrige DNA-Addukte (*bulky adducts*), die nach Exposition gegenüber chemischen Karzinogenen wie Benz[*a*]pyrenen und Acetaldehyd

entstehen (Hu et al., 2002; Volker et al., 2001). NER besteht aus zwei verschiedenen Reparatursystemen: der globalen genomischen Reparatur (*global genome repair*, GGR) und der transkriptionsabhängigen Reparatur (*transcription coupled repair*, TCR). GGR entfernt kontinuierlich DNA-Schäden im gesamten Genom und trägt damit zur Reduktion von Mutationen bei. Langzeiteffekte solcher Mutationen können in Karzinogenese, Zelldysfunktion und Alterung bestehen (Sugasawa et al., 2002). TCR dagegen ist auf die Beseitigung von Schäden spezialisiert, die in transkribierten DNA-Abschnitten liegen und im Verlauf der Transkription die RNA-Polymerase II blockieren (Leadon und Lawrence, 1991; Venema et al., 1992). TCR trägt zur schnellen Wiederherstellung des Transkriptionsvorgangs bei und schützt die Zelle auf diese Weise vor akuten Folgen von DNA-Schäden, wie z.B. Apoptose (Sugasawa et al., 2002). GGR und TCR unterscheiden sich nur in ihrem ersten Schritt, der Erkennung des DNA-Schadens (van Steeg, 2001). Die Elimination eines DNA-Schadens durch TCR während der Transkription des Gens wird durch die plötzliche Blockierung der RNA-Polymerase II initiiert (Mellon und Hanawalt, 1989). Demgegenüber besteht der erste Schritt des GGR in der Erkennung der veränderten DNA-Struktur durch die Enzymkomplexe XPC-HR23B oder DDB1-DDB2 (Christmann et al., 2003; Riedl et al., 2003; Sugawasa et al., 2002; Volker et al., 2001). In allen folgenden Schritten, nämlich erstens der Erkennung des Schadens, zweitens des Entwindens der DNA-Doppelhelix, drittens der Inzision auf beiden Seiten der Läsion und viertens der Exzision des geschädigten Oligonukleotids aus dem DNA-Doppelstrang mit nachfolgender DNA-Resynthese und Ligation, unterscheiden sich GGR und TCR nicht.

1.4 Erbliche Polymorphismen in DNA-Reparaturenzymen der NER

Gene von über 130 menschlichen DNA-Reparaturenzymen sind bis heute beschrieben (Wood et al., 2001), und eine Vielzahl von DNA-Punktmutationen, so genannte *single nucleotide polymorphisms* (SNPs), ist in diesen Genen identifiziert worden (Fan et al., 1999; Ford et al., 2000; Shen et al., 1998).

In mehreren epidemiologischen Studien wurde das Vorkommen von DNA-Reparaturenzym polymorphismen in der Allgemeinbevölkerung bereits untersucht und z.T. wurden Assoziationen mit Tabakrauch-assoziierten Krebserkrankungen entdeckt (Goode et al., 2002). Die weitere Erforschung derartiger genetisch festgelegter Risikokonstellationen ist von weitreichender Bedeutung, da es hierdurch ermöglicht werden könnte, individuelle Risikoprofile zu erstellen und auf dieser Basis die unterschiedliche Gefährdung von Patienten durch exogene Krebsrisikofaktoren besser abschätzen zu können. Dies würde auch neue Dimensionen der primären und sekundären Krebsprävention eröffnen (Maier et al., 2002).

1.4.1 Proliferating cell nuclear antigen (PCNA)

Ma und Mitarbeiter identifizierten neun Genvarianten in den kodierenden und benachbarten nichtkodierenden Regionen von PCNA (Ma et al., 2000). PCNA kodiert für ein multifunktionales Protein, das durch seine Interaktion mit DNA-Polymerase ϵ (epsilon) und δ (delta) eine entscheidende Rolle bei DNA-Synthese und -Reparatur spielt (Harfe und Jinks-Robertson, 2000). Auch der letzte Schritt der NER, die Resynthese des exzidierten fehlerhaften Oligonukleotids, erfolgt in Anwesenheit von PCNA (Shivji et al., 1995). Sieben der identifizierten SNPs waren in Intron 1 und 4 von PCNA. Sechs davon befanden sich im Kopplungsungleichgewicht, sie traten also immer gleichzeitig auf (Allelfrequenz 0,088). Vor dem Hintergrund mehrerer In-vitro-Experimente, die regulatorische Elemente für die Expression des PCNA-Gens in den Introns 1 und 4 nachwiesen (Alder et al., 1992; Chang et al., 1990; Ottavio et al., 1990), wurden zwei der sechs verbundenen SNPs für die Genotypisierung bei Larynxkarzinompatienten in dieser Studie ausgewählt.

1.4.2 Excision repair cross complementation group 1 (ERCC1)

ERCC1 ist das erste Reparaturenzym der NER, das identifiziert wurde (van Duin et al., 1986). Es bildet einen Teil der 5'-spezifischen Exonuklease XPF-ERCC1 und ist für die 5'-Inzision des defekten Oligonukleotids verantwortlich. Yu, Shen und ihre Mitarbeiter fanden eine Genvariante in Exon 4 des Gens von ERCC1 (Shen et al., 1998; Yu et al., 1997). Dieser Polymorphismus hatte zwar keinen Aminosäureaustausch zur Folge, führte aber durch die Umwandlung des Kodons zu einer Reduktion der Transkriptionsrate auf fast 50% und könnte damit Auswirkungen auf die DNA-Reparaturkapazität eines Individuums haben (Yu et al., 2000). Eine andere Arbeitsgruppe fand eine statistisch signifikante Assoziation zwischen dem A-Allel dieses Polymorphismus und dem Auftreten von Basalzellkarzinomen (Yin et al., 2003).

In der nicht-translatierten Region am 3'-Ende des ERCC1-Gens (3'-UTR: 3' *untranslated region*) fanden Shen und Mitarbeiter einen weiteren Polymorphismus (Shen et al., 1998). Der Referenztyp dieses Polymorphismus war statistisch hochsignifikant mit dem Vorkommen von Oligoastrozytomen assoziiert (Chen et al., 2000).

1.4.3 Xeroderma pigmentosum group F (XPF(ERCC4))

Die 5'-Exonuklease XPF(ERCC4) wurde erstmals bei Patienten mit Xeroderma pigmentosum der Gruppe F identifiziert. Sie bildet zusammen mit ERCC1 ein Heterodimer, das für die Inzision am 5'-Ende der zu exzidierenden DNA-Läsion verantwortlich ist. Da XPF(ERCC4) in der Enzymkaskade des *nucleotide excision repair* eine wichtige Rolle spielt, suchten Fan und

Mitarbeiter nach Polymorphismen in den kodierenden und angrenzenden nichtkodierenden Regionen des XPF-Gens (Fan et al., 1999). Zwei der von ihnen identifizierten Polymorphismen haben den Austausch einer hydrophilen gegen eine amphiphile Aminosäure zur Folge und wurden aus diesem Grund in der vorliegenden Studie näher untersucht. In den SNP-Datenbanken des *National Center for Biotechnology Information* sind darüber hinaus alle bisher identifizierten Genvarianten in XPF(ERCC4) verzeichnet (National Center for Biotechnology Information, 2001). Da insbesondere solche Polymorphismen in epidemiologischen Assoziationsstudien von Interesse sind, die Einfluss auf die Funktion des Genprodukts haben könnten, wurde hier besonderes Augenmerk auf Varianten gelegt, die in einem Aminosäureaustausch resultieren. Von diesen Genvarianten mit Aminosäureaustausch wurden in dieser Studie zwei untersucht, deren Vorkommen bereits durch mehrere, voneinander unabhängige Datenbankeinträge bestätigt worden war.

1.4.4 Xeroderma pigmentosum group C (XPC)

Das DNA-Reparaturenzym XPC bildet zusammen mit einem weiteren Protein HR23B einen Komplex, der für die Initiierung des *global genome repair* (GGR) der NER sorgt. Es spielt daher eine essentielle Rolle für die DNA-Reparaturkapazität eines Individuums. Khan und Mitarbeiter fanden einen neuen Polymorphismus von XPC, der aus einer 83 Basenpaare umfassenden Poly-AT-Insertion und einer Deletion von 5 Basenpaaren in Intron 9 besteht. Dieser Poly-AT-Polymorphismus weist zudem ein Kopplungsungleichgewicht mit einem Polymorphismus in Exon 15 von XPC auf, der in einem Aminosäureaustausch resultiert (Khan et al., 2000) sowie mit einem weiteren Polymorphismus in Intron 11 von XPC, der in einer Splice-Akzeptorstelle dieses Genabschnitts liegt (Marín et al., 2004). Es ist also anzunehmen, dass alle drei Polymorphismen immer gleichzeitig auftreten. In dieser Studie wurde stellvertretend nur der Poly-AT-Polymorphismus in XPC genotypisiert, um einen möglichen Zusammenhang mit Krebserkrankungen des Kehlkopfes zu untersuchen.

1.5 Genetische Variabilität der DNA-Reparaturkapazität

Defekte in Genen, die für Proteine kodieren, die an DNA-Reparaturvorgängen beteiligt sind, können zu Mutationen, Instabilität des Genoms und langfristig zur Entwicklung von Krebserkrankungen führen. Dabei kann eine Genmutation entweder einen völligen Funktionsverlust eines Proteins hervorrufen oder aber in einer nur herabgesetzten Funktionsfähigkeit des Enzyms resultieren, die sich nur unter bestimmten Bedingungen manifestiert (de Boer, 2002).

Dietz definierte in diesem Zusammenhang die genetische und enzymatische Ausstattung sowie die Empfindlichkeit eines Individuums gegenüber Mutagenen, die schließlich Krebserkrankungen erzeugen können, als die individuelle Suszeptibilität (Dietz, 2002). Eine besonders große Empfindlichkeit gegenüber Krebserkrankungen entsteht durch Veränderungen in Genen mit hoher Penetranz. Sie führen im Allgemeinen zu erblichen Störungen wie z.B. Xeroderma pigmentosum oder dem hereditären, nichtpolypösen Kolonkarzinom-Syndrom.

Sehr viel häufiger werden jedoch genetische Polymorphismen in Genen mit niedriger Penetranz gefunden. In dieser Gruppe bedarf es der Kombination mehrerer Mutationen in verschiedenen Genen oder der Interaktion mit äußeren Faktoren, um die Empfindlichkeit gegenüber Krebserkrankungen zu erhöhen (de Boer, 2002; Preston, 1996).

Die Mehrzahl der Larynxkarzinompatienten ist chronisch den in Tabakrauch enthaltenen polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen ausgesetzt, die zur Bildung der oben beschriebenen DNA-Addukte führen. Mutationen in Genen von denjenigen DNA-Reparaturenzymen, die für die Reparatur dieser Addukte zuständig sind, könnten in der Summe zu einer verminderten DNA-Reparaturkapazität führen und damit die Suszeptibilität gegenüber der Entwicklung von Larynxkarzinomen erhöhen. Phänotypische und genotypische Beweisführungen unterstützten bereits die Hypothese, dass die genetische Suszeptibilität eine wichtige Rolle in der Ätiologie von Plattenepithelkarzinomen von Kopf und Hals spielt. Dabei wurden phänotypische Unterschiede der Fähigkeit festgestellt, DNA-Schäden zu reparieren, die durch Karzinogene des Tabakkondensates hervorgerufen worden waren (Sturgis und Wei, 2002).

1.6 Fragestellung und Zielsetzung

Als exogene Hauptrisikofaktoren für das Larynxkarzinom gelten der chronische Tabak- und Alkoholabusus. Beide Genußmittel enthalten Karzinogene, die zu DNA-Schäden führen. Es entwickeln jedoch nicht alle Menschen, die diesen Risikofaktoren ausgesetzt sind, ein Larynxkarzinom, und von den Erkrankten haben viele Alkohol und Tabak auch nur wenig zugesprochen. Eine mögliche Erklärung für diese interindividuell unterschiedliche Empfindlichkeit könnten genetisch bedingte Unterschiede in der Fähigkeit sein, DNA-Schäden zu reparieren. Besonderes Augenmerk fällt dabei auf die Enzyme des *nucleotide excision repair* (NER), weil diese wesentlich sind für die Beseitigung verschiedener Arten von DNA-Addukten, die sowohl durch im Tabakrauch enthaltene Benz[*a*]pyrene als auch durch Metaboliten von Ethanol verursacht werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Frage nachgegangen, ob genetische Variationen in Enzymen, die essentiell für den Ablauf der Nukleotidexzisions-Reparatur sind, einzeln oder in Kombination (Haplotypanalyse) mit dem Auftreten von Kehlkopfkrebs assoziiert sind. Folgende Polymorphismen wurden untersucht: C₁₆₆₁G und C₁₆₈₄A in PCNA, A₁₉₀₀₇G und C₈₀₉₂A in ERCC1, G₁₇₁₀₃A, T₂₆₇₂₉C, A₃₀₁₄₇G und G₃₀₂₅₈A in XPF(ERCC4) sowie eine Poly-AT-Variante in XPC.

Für die Beantwortung der oben genannten Frage wurden Daten einer krankenhausbasierten retrospektiven Fall-Kontroll-Studie verwendet. Die genetischen Untersuchungen wurden von der Doktorandin durchgeführt. Dabei war es erforderlich, für verschiedene genetische Varianten PCR/RFLP-Methoden zur Genotypisierung zu etablieren bzw. zu optimieren.