

Polymorphismen von Cytochromoxydasen und Glutathion-S-Transferasen
als Faktoren der genetischen Prädisposition arbeitsbedingter
Lungenkrebserkrankungen

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Ulrike Ruth Berges
aus Mainz

Gießen 2006

Aus dem Medizinischen Zentrum für Ökologie
Institut und Poliklinik für Arbeits- und Sozialmedizin

Kommissarischer Leiter: Privatdozent Dr. med. Joachim Schneider
des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Gutachter: PD Dr. med. Joachim Schneider

Gutachter: Prof. Dr. med. Hans-Georg Velcovsky

Tag der Disputation: 28.09.2006

meiner Mutter gewidmet

1	Einleitung	7
1.1	Epidemiologie und Morphologie des Bronchialkarzinoms.....	7
1.2	Kanzerogenese	10
1.3	Fremdstoffmetabolismus.....	11
1.3.1	Das Cytochrom P450-System	13
1.3.2	Die Glutathion-S-Transferasen	14
2	Fragestellung	16
3	Kollektiv und Methoden.....	17
3.1	Patientenkollektiv und Kontrollgruppe	17
3.2	Geräte und Materialien.....	20
3.3	Untersuchungen.....	22
3.3.1	DNS-Isolierung	22
3.3.2	Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)	23
3.4	Statistik.....	28
4	Ergebnisse	29
4.1	Ermittlung der Allelfrequenz in der Bevölkerung.....	29
4.1.1	Die Cytochromoxidase CYP1A1 T6235C.....	29
4.1.2	Die Cytochromoxidase CYP1A1 A4889G	29
4.1.3	Die Cytochromoxidase CYP1B1	30
4.1.4	Die Glutathion-S-Transferase GSTP1.....	31
4.1.5	Die Glutathion-S-Transferase GSTM1	31
4.1.6	Die Glutathion-S-Transferase GSTT1	32
4.2	Genpolymorphismen in Abhängigkeit vom histologischen Tumortyp.....	32
4.2.1	Polymorphismus der Cytochromoxidase CYP1A1 T6235C.....	33
4.2.2	Polymorphismus der Cytochromoxidase CYP1A1 A4889G.....	33
4.2.3	Polymorphismus der Cytochromoxidase CYP1B1	34
4.2.4	Polymorphismus der Glutathion-S-Transferase GSTP1	35
4.2.5	Polymorphismus der Glutathion-S-Transferase GSTM1.....	36
4.2.6	Polymorphismus der Glutathion-S-Transferase GSTT1	37
4.3	Abschätzung des Lungenkrebs-Risikos	37
4.3.1	Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Cytochromoxidase CYP1A1 T6235C	38
4.3.2	Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Cytochromoxidase CYP1A1 A4889G.....	38
4.3.3	Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Cytochromoxidase CYP1B1.....	39
4.3.4	Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase GSTP1.....	40
4.3.5	Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase GSTM1	41
4.3.6	Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase GSTT1	41
4.4	Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum.....	42
4.4.1	Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Cytochromoxidase CYP1A1 T6235C in Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum	42
4.4.2	Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Cytochromoxidase CYP1A1 A4889G in Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum	44
4.4.3	Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Cytochromoxidase CYP1B1 in Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum	45
4.4.4	Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase GSTP1 in Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum	46

4.4.5	Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase GSTM1 in Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum	47
4.4.6	Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase GSTT1 in Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum	49
4.5	Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von kanzerogener Gefahrstoffeinwirkung am Arbeitsplatz.....	50
4.5.1	Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Cytochromoxidase CYP1A1 T6235C bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz.....	51
4.5.2	Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Cytochromoxidase CYP1A1 A4889G bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz.....	54
4.5.3	Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Cytochromoxidase CYP1B1 bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz	56
4.5.4	Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase GSTP1 bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz.....	58
4.5.5	Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase GSTM1 bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz.....	60
4.5.6	Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase GSTT1 bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz.....	62
4.5.7	Zusammenfassende Beurteilung	64
5	Diskussion	65
5.1	Genotypen, Allelfrequenzen und Risiken	66
5.1.1	Die CYP1A1 T6235C-Genotypverteilung in der internationalen Literatur.....	66
5.1.2	Die mit dem CYP1A1 T6235C –Polymorphismus assoziierten Erkrankungsrisiken an Lungenkrebs	67
5.1.3	Die CYP1A1 A4889G- Genotypverteilung in der internationalen Literatur... ..	68
5.1.4	Die mit dem CYP1A1 A4889G-Polymorphismus assoziierten Erkrankungsrisiken an Lungenkrebs	69
5.1.5	Die CYP1B1-Genotypverteilung sowie die mit dem CYP1B1-Polymorphismus assoziierten Erkrankungsrisiken an Lungenkrebs	70
5.1.6	Die GSTP1-Genotypverteilung in der internationalen Literatur.....	70
5.1.7	Die mit dem GSTP1-Polymorphismus assoziierten Erkrankungsrisiken an Lungenkrebs	71
5.1.8	Die GSTM1-Genotypverteilung in der internationalen Literatur	72
5.1.9	Die mit dem GSTM1-Polymorphismus assoziierten Erkrankungsrisiken an Lungenkrebs	73
5.1.10	Die GSTT1-Genotypverteilungen in der internationalen Literatur.....	74
5.1.11	Die mit dem GSTT1-Polymorphismus assoziierten Erkrankungsrisiken an Lungenkrebs	74
5.2	Untersuchungen der Polymorphismen in Abhängigkeit vom histologischen Typ der Lungenkrebserkrankung	75
5.2.1	Der Einfluss von Cytochromoxidasen auf bestimmte Karzinomtypen.....	75
5.2.2	Der Einfluss von Glutathion-S-Transferasen auf bestimmte Karzinomtypen .	76
5.3	Untersuchungen der Polymorphismen in Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum	76

5.3.1.	Zusammenhang zwischen den Polymorphismen der Cytochromoxidasen und dem Risiko einer Lungenkrebserkrankung in Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum	77
5.3.2.	Zusammenhang zwischen Polymorphismen der Glutathion-S-Transferasen und dem Risiko einer Lungenkrebserkrankung in Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum	77
5.4 .	Untersuchungen der Polymorphismen in Abhängigkeit von kanzerogenen Gefahrstoffeinwirkungen am Arbeitsplatz	79
5.5	Schlussfolgerung	80
6	Zusammenfassung	82
7.	Literaturverzeichnis.....	85

1 Einleitung

1.1 Epidemiologie und Morphologie des Bronchialkarzinoms

Das Bronchialkarzinom ist bei Männern die häufigste Krebstodesursache, bei Frauen steht es an dritter Stelle hinter den Krebstodesursachen von Brust und Darm.

In der Bundesrepublik Deutschland starben im Jahr 2004 insgesamt 214.863 Personen an Krebsleiden. Davon wurden bei den Männern 25,4% (28.786) und bei den Frauen 10,8% (11.012) auf das Bronchialkarzinom zurückgeführt [77]. Die Fünfjahres-Überlebensrate dieser Krebserkrankung liegt trotz moderner Diagnostik und therapeutischer Fortschritte bei nur etwa 15% [49]. Die Gesamtkosten des Bronchialkarzinoms beliefen sich 1996 in Deutschland auf etwa 4,5 Mrd. Euro [87].

Das Bronchialkarzinom tritt meistens im letzten Lebensdrittel auf, der Häufigkeitsgipfel liegt im Zeitraum zwischen dem 55 und 65 Lebensjahr.

Anhand der jeweils vorherrschenden Zellform lässt sich das Bronchialkarzinom klassifizieren: Die vier häufigsten Krebstypen sind das Plattenepithelkarzinom (30-40%) vor dem Adenokarzinom (25-30%), dem kleinzelligen (15-20%) und dem großzelligen Karzinom (10-15%) [49].

Zu Beginn des letzten Jahrhunderts war Lungenkrebs eine seltene Erkrankung [44]. Zu einem starken Anstieg der Erkrankungshäufigkeit kam es erst nach den Weltkriegen, zuerst bei den Männern, dann auch bei den Frauen. 1995 betrug das Verhältnis der betroffenen Männer zu Frauen 5:1, mittlerweile liegt es bei etwa 5:2 [6, 77]. Ein Teil des Anstiegs der Erkrankungshäufigkeit lässt sich durch eine verbesserte Diagnostik erklären, zweifelsfrei besteht aber auch eine Zunahme in Folge von Einwirkungen inhalativer kanzerogener Gefahrstoffe.

Ätiologisch bedeutsame Risikofaktoren für die Lungenkrebserkrankungen stellen Faktoren wie die Konstitution und Disposition, die individuelle Enzymausstattung, die Immunabwehr, die endokrine Regulation aber auch pulmonale Vorerkrankungen dar. Außerdem zählen zu den Risikofaktoren die Ernährungsgewohnheiten, der Medikamentenverbrauch und insbesondere inhalative Noxen.

Als wichtigste Ursache für dem Lungenkrebs wird das Inhalieren von Tabakrauch angesehen. Zu etwa 85% wird das Bronchialkarzinom durch Tabakrauch (Zigarettenrauch) verursacht, ungefähr 8% stellen andere Lungenkrebs erzeugende Karzinogene (z. B. Asbest, Chromate,

Arsen, Nickel) dar, etwa 5% werden durch die sog. „Luftverschmutzung“ und etwa 2% durch andere Faktoren verursacht [64].

Im Tabakrauch wurden bisher mehr als 40 Karzinogene identifiziert [68]. Darunter sind die bekanntermaßen Lungenkrebs erzeugenden polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe (PAH; z.B. Benzo(a)pyren), aber auch weitere Humankanzerogene ohne Organotropie auf die Lunge wie N-Nitrosamine, aromatische Amine sowie weitere organische (z. B. Acrylnitril, Benzol) und anorganische (z. B. Arsen, Cadmium, Nickel) Verbindungen.

Das relative Risiko an Lungenkrebs zu erkranken steigt mit der Anzahl der gerauchten Zigaretten an (s. Abbildung 1). Als Maß wird international das Zigaretten-Packungsjahr (pack year) verwendet. Ein Packungsjahr entspricht dem täglichen Konsum von 20 Zigaretten über die Dauer eines Jahres. Nach Einstellen des Rauchens beginnt das Lungenkrebsrisiko zu sinken. Das Niveau des Nierauchers wird allerdings nicht mehr erreicht.

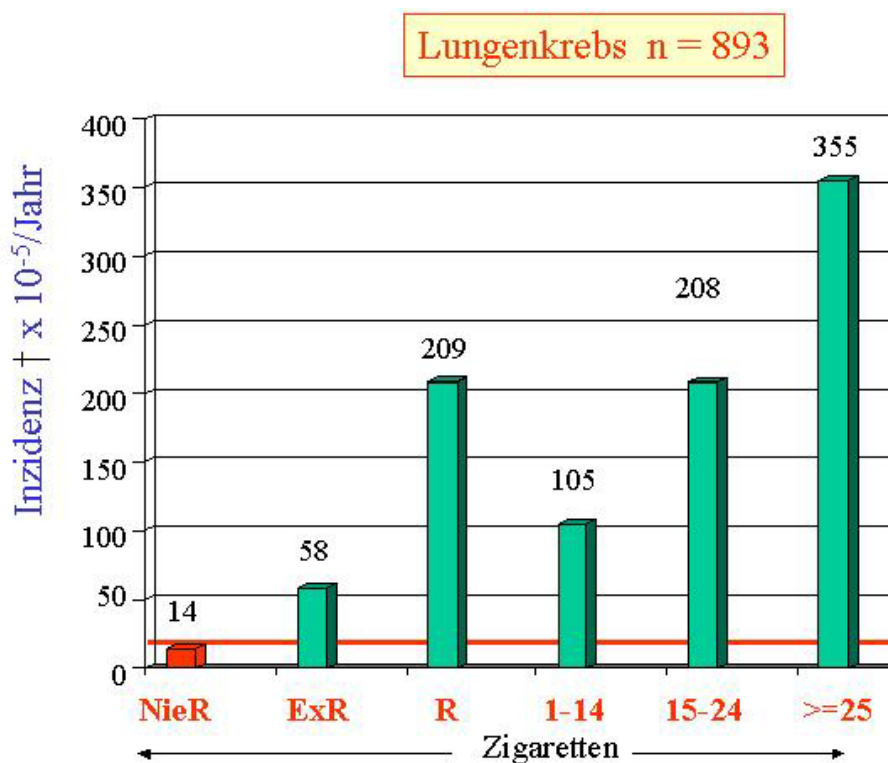


Abbildung 1

Mortalität in Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum bei 34 439 männlichen Personen innerhalb von 40 Jahren (nach Doll und Peto, 1994)

Aus arbeitsmedizinischer Sicht stellen die Krebs erzeugenden Arbeitsstoffe, die so genannten Humankanzerogene, neben der ionisierenden Strahlung die wichtigsten Risikofaktoren für die

Entstehung von Lungenkrebs dar [92, 93]. Von den von den Unfallversicherungsträgern anerkannten und entschädigten Berufskrebserkrankung steht der Lungenkrebs mit etwa 53% auf dem ersten Platz der Organmanifestationen [12].

In Tabelle 1 sind die derzeit bekannten und epidemiologisch gesicherten Lungenkrebs erzeugenden Arbeitsstoffe und deren Einordnung in das geltende Berufskrankheiten-Recht aufgeführt.

Tabelle 1: Lungenkrebs erzeugende **Arbeitsstoffe** und Einordnung in das Berufskrankheiten - Recht

Lungenkrebserzeugende Arbeitsstoffe		Berufskrankheiten - Recht
1.	Asbestarten	Nr. 4104 BKV
2.	Arsenverbindungen	Nr. 1108 BKV
3.	Chrom-VI-Verbindungen	Nr. 1103 BKV
4.	Dichlordiethylsulfid (Lost)	Nr. 1311 BKV
5.	Haloether (Bischlormethylether)	Nr. 1310 BKV
6.	Ionisierende Strahlung	Nr. 2402 BKV
7.	Nickelverbindungen	Nr. 4109 BKV
8.	Kokereirohgas	Nr. 4110 BKV
9.	PAH	z.Zt. § 9 (2) SGB VII
10.	Quarzstaub	Nr. 4112 BKV

Das individuelle Erkrankungsrisiko wird einerseits durch die kanzerogene Exposition sowie andererseits durch die genetische Disposition determiniert [52].

Die genetischen Faktoren, die für die Entstehung von Lungenkrebs verantwortlich sind, können auf unterschiedlichen Mechanismen beruhen. Neben einer verminderten mukoziliären Clearance spielen eine verminderte DNS-Reparatur und Mutationen an bestimmten Chromosomen eine Rolle. Mutationen verschiedener Tumorsuppressorgene werden die größte Bedeutung zugesprochen: p53, das Retinoblastom-Gen, das APC-Gen und das Suppressorgen auf Chromosom 3p(14-23) [45, 52, 69]. Außerdem spielt die Aktivierung von Onkogenen eine Rolle [69].

Als weiterer Dispositionsfaktor wird die metabolische Aktivierung und Inaktivierung von kanzerogenen Stoffen durch Fremdstoff metabolisierende Enzyme angesehen [5, 60]. Zu diesen sogenannten Suszeptibilitätsmarkern zählen insbesondere die Cytochromoxidasen und die Glutathion-S-Transferasen.

1.2 Kanzerogenese

Die Entstehung und Entwicklung eines malignen Tumors beruht auf dem Zusammenwirken individueller, genetischer und umweltbedingter Faktoren. Neben der spontanen Mutagenese spielen vor allem Umweltfaktoren wie Viren, ionisierende und ultraviolette Strahlung und schließlich chemische Substanzen bei der Kanzerogenese eine Rolle.

Die maligne Transformation der Zellen entsteht auf der Grundlage mehrerer genetischer Veränderungen, die zu einer Störung der normalen Zellproliferation und Zelldifferenzierung führen. Das Mehrstufenkonzept stellt ein Modell der Krebsentstehung dar (siehe Abbildung 2).

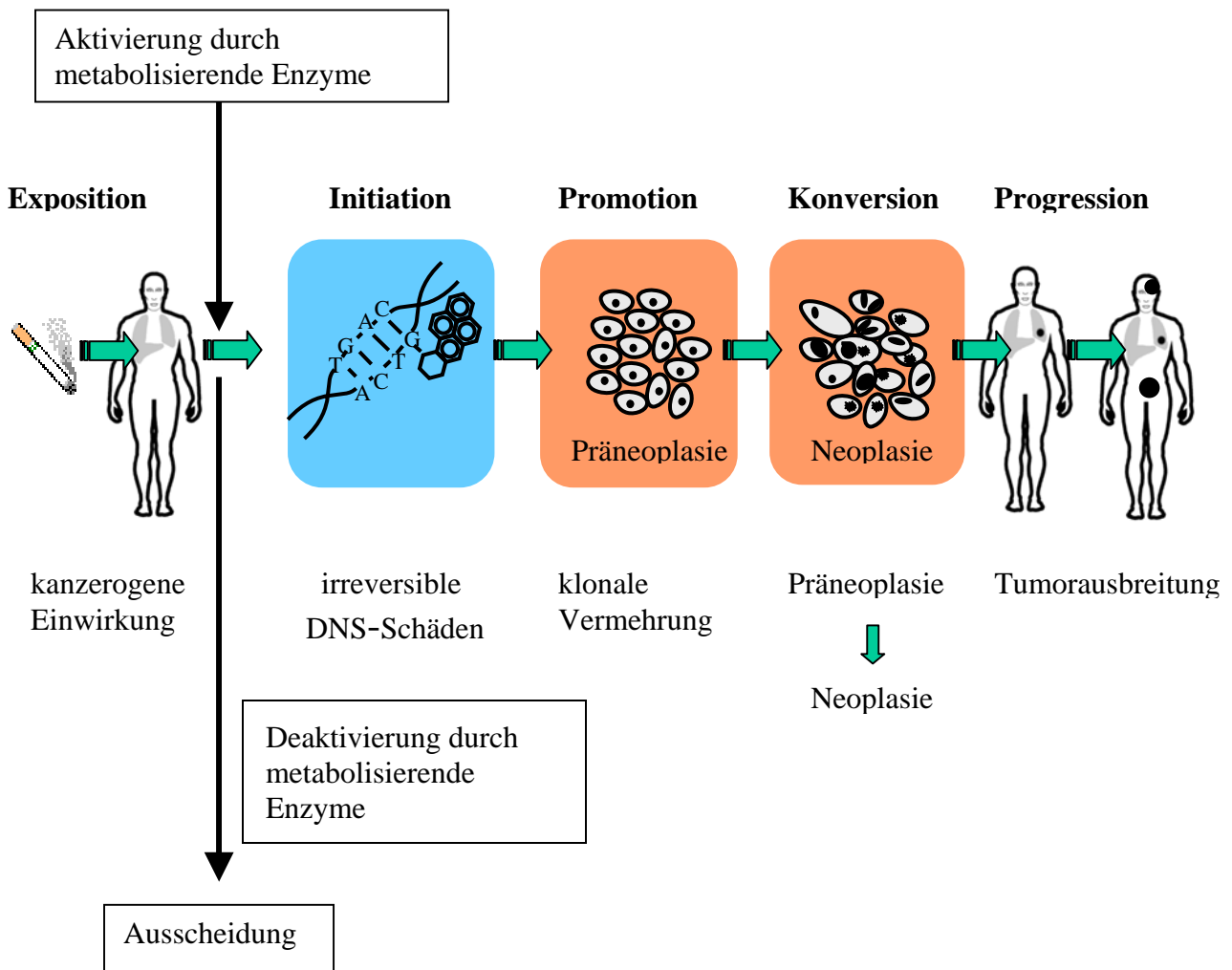


Abbildung 2

Mehrstufenkonzept der Kanzerogenese (variiert nach Shields und Harris, 1991)

Inhalativ aufgenommene Karzinogene wirken auf die Schleimhäute des Respirationstraktes ein. Als genotoxische Karzinogene kommen neben Rauchen insbesondere kanzerogene Arbeitsstoffe und ionisierende Strahlen in Betracht. Diese führen zur Initiation der Körperzelle und damit zu irreversiblen Schäden der DNS. In der Promotionsphase kommt es zur klonalen Vermehrung der initiierten Zelle. Daraufhin folgt die Phase der Konversion, in der die präneoplastischen Zellen in Tumorzellen übergehen. Schließlich findet in der Progressionsphase eine zunehmende Ausbreitung und Metastasierung der Tumorzellen statt. Dabei kann die Latenzzeit zwischen Kanzerogenkontakt und Manifestation eines malignen Tumors Jahrzehnte betragen.

Dem Organismus stehen verschiedene Abwehrsysteme zur Verfügung. Dazu gehören Reparaturmechanismen und Hemmung der Zellaktivität und Zellteilungsgeschwindigkeit ebenso wie die metabolische Inaktivierung der Kanzerogene durch Fremdstoffmetabolisierende Enzyme und ihre erleichterte Ausscheidung.

1.3 Fremdstoffmetabolismus

Der Organismus ist ständig chemischen Stoffen ausgesetzt, die zur Gefährdung seiner Gesundheit führen können. Um sich dagegen zu schützen, verfügt er unter anderem über spezielle Enzymsysteme, die diese Fremdstoffe metabolisieren um deren Ausscheidung zu erleichtern.

Der Fremdstoffmetabolismus wird in zwei Phasen eingeteilt [54]:

In Phase I werden an dem lipophilen Substrat funktionelle Gruppen eingeführt oder demaskiert. Dadurch kommt es zur Aktivierung von chemisch stabilen Vorstufen zu chemisch reaktiven Zwischenprodukten („Giftung“). Die entstehenden toxischen Metaboliten können an Makromoleküle wie die DNS binden und damit zu Mutationen mit möglicher Folge der Initiation der Kanzerogenese führen [70].

Das Cytochrom P450-System ist das bedeutendste Enzymsystem der Phase I. Einen Überblick gibt Tabelle 2.

Tabelle 2 Fremdstoffmetabolismus durch Phase I Enzyme (nach Idle, 1992)

Phase I	
Reaktion	Enzyme
Oxidation	Cytochrom P450-Monooxygenasen Monoaminoxidasen Alkoholdehydrogenase Epoxid-Hydrolase Aldehyddehydrogenase S-Oxidase Flavinhaltige Monooxygenase
Reduktion	Reduktasen Cytochrom P450 (unter anaeroben Bedingungen)
Hydrolyse	Epoxid-Hydrolasen Esterasen

In Phase II werden die funktionellen Gruppen mit polaren Molekülen konjugiert, womit eine erhöhte Hydrophilie und damit eine bessere Ausscheidung erreicht wird („Entgiftung“). Zu den wichtigsten Enzymsystemen der Phase II gehören die N-Acetyltransferasen und die Glutathion-S-Transferasen (s. Tabelle 3)

Tabelle 3 Fremdstoffmetabolismus durch Phase II Enzyme (nach Idle, 1992)

Phase II	
Reaktion	Enzyme
Acetylierung	N-Acetyltransferasen
Glutathionkonjugation	Glutathion-S-Transferasen
Glukuronidierung	UDP-Glukuronyltransferasen
Sulfatierung	Sulfotransferasen
Methylierung	Methyltransferasen
Konjugation mit Aminosäuren	Aminosäuren-N-Acetyltransferasen

Die Aktivität eines bestimmten Enzyms kann unterschiedliche Ausprägungen haben. Dies kann auf genetischen Varianten beruhen. Allelische Varianten mit einer Häufigkeit von mehr als einem Prozent in der Bevölkerung werden Polymorphismen genannt [54].

Polymorphismen können zu erhöhter oder erniedrigter Aktivität oder sogar zu einem vollständigen Fehlen des Genprodukts (Enzym) führen [13].

Bei verschiedenen Fremdstoff metabolisierenden Enzymen sind Polymorphismen bekannt, unter anderem auch für Cytochrom P450-Monooxygenasen und für Glutathion-S-Transferasen.

1.3.1 Das Cytochrom P450-System

Für den oxidativen Phase-1-Metabolismus sind die Cytochrom P450 abhängigen Monooxygenasen von zentraler Bedeutung. Die einzelnen Cytochrom P450-Gene werden nach ihrer Sequenzhomologie in Gruppen eingeteilt. Nach der Abkürzung CYP folgt eine arabische Ziffer zur Kennzeichnung der Genfamilie (mindestens 40% Sequenzhomologie), dann ein Großbuchstabe welche die Subfamilie benennt (mindestens 55% Sequenzhomologie) und zuletzt eine arabische Ziffer zur Benennung des einzelnen Enzyms [31].

Etwa die Hälfte der menschlichen Cytochromoxidasen ist für den Fremdstoffmetabolismus von Bedeutung, die andere Hälfte nimmt am Stoffwechsel endogener Metaboliten wie Steroidhormonen, Eicosanoiden und Vitamin D teil [55]. Die meisten Fremdstoff metabolisierenden Cytochromoxidasen setzen auch kanzerogene Gefahrstoff wie die polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe um, allerdings mit unterschiedlich hoher Aktivität. Hierdurch kommt es zur Bildung ultimaler Kanzerogene. Die höchste Effizienz wurde für CYP1A1 und CYP1B1 gefunden.

Das Cytochromoxidasystem CYP1A1

Für das *CYP1A1* sind zwei Polymorphismen bekannt. Eine Punktmutation liegt an Position 6235 in der 3' flankierenden Region und führt zu einem Austausch von Thymidin mit Cytosin. Sie ist zugleich eine Schnittstelle für das Restriktionsenzym *MspI* [76]. Es werden die Genotypen Wildtyp (wt/wt), heterozygoter Typ (wt/mt) und mutierter Typ (mt/mt) identifiziert [35].

Eine weitere Punktmutation auf Exon 7 an Position 4889, an der Adenin durch Guanin ersetzt wird, bewirkt einen Austausch der Aminosäure Isoleucin gegen Valin an der Häm bindenden Region des Enzyms (Position 462) [20]. Auch hier existieren drei Genotypen: Wildtyp (wt/wt), heterozygoter Typ (wt/mt) und varianter Typ (mt/mt).

Das Cytochromoxidasesystem CYP1B1

Für das *CYP1B1* sind 26 Polymorphismen beschrieben worden, die teilweise zu einem vollständigen Funktionsverlust führen. Einer von ihnen ist durch eine Punktmutation im Exon 3 des Gens charakterisiert und tauscht an Position 1640 Cytosin mit Guanin aus (*CYP 1B1**3). Dadurch kommt es zu einem Austausch von Leucin gegen Valin an Position 432 des Enzyms [78].

1.3.2 Die Glutathion-S-Transferasen

Das nukleophile Tripeptid Glutathion kann mit vielen Phase-I-Metaboliten reagieren und somit reaktive Metaboliten detoxifizieren. Beschleunigt wird diese Reaktion durch die Isoenzyme der Glutathion-S-Transferasen. Zu den Substraten der Glutathion-S-Transferasen gehören unter anderem auch die Karzinogene Aflatoxin und Benz(a)pyren, außerdem Epoxide und halogenierte Alkane [10].

Im Zytosol sind fünf verschiedene Glutathion-S-Transferasen lokalisiert. Die Zugehörigkeit zu einer der Klassen Alpha, Mu, Pi, Theta oder Zeta wird durch Großbuchstaben gekennzeichnet: GSTA, GSTM, GSTP, GSTT und GSTZ. Außerdem befindet sich eine strukturell sehr verschiedene Form in den Mikrosomen [54]. Zusätzlich zu diesen in der Literatur gängigen Isoenzymen gibt es Hinweise auf das Vorkommen zweier weiterer Klassen: GSTS [88] und GSTK [57]. Innerhalb einer Klasse besteht eine Sequenzhomologie der Enzyme von mindestens 70%, zwischen den Untereinheiten zweier Klassen liegt sie unter 30% [90].

Alle Glutathion-S-Transferasen sind aus zwei Untereinheiten aufgebaut, die durch arabische Ziffern bezeichnet werden. Eine Übersicht über die menschlichen zytosolischen Glutathion-S-Transferasen gibt Tabelle 4.

Polymorphismen sind bei folgenden vier Isoenzymen bekannt: GSTM1, GSTM3, GSTT1 und GSTP1. In dieser Studie wurden die Polymorphismen der GSTM1, GSTT1 und GSTP1 untersucht.

Tabelle 4 Nomenklatur der **Glutathion-S-Transferasen** (nach Mannervik et al., 1992 und Brockmüller, 1998)

Klasse	Genbezeichnung	Isoenzym	Chromosom	Literatur
Alpha (A)	<i>GSTA1</i>	GSTA1-1	6p12	Board und Webb, 1987
	<i>GSTA2</i>	GSTA2-2	6p12	Stockmann et al., 1987
	<i>GSTA3</i>	GSTA3-3	n. b.	Suzuki et al., 1993 Board, 1998
	<i>GSTA4</i>	GSTA4-4	n. b.	Singhal et al., 1994 Board, 1998
Mu (M)	<i>GSTM1</i>	GSTM1a-1a	1p13	Ross et al., 1993
		GSTM1b-1b		Seidegard et al., 1987
		GSTM1a-1b		Widersten et al., 1991
	<i>GSTM2</i>	GSTM2-2	1p13	Suzuki et al., 1987
	<i>GSTM3</i>	GSTM3-3	1p13	Campbell et al., 1990
	<i>GSTM4</i>	GSTM4-4	1p13	Ross et al., 1993
<i>GSTM5</i>	GSTM5-5	1p13	Pearson et al., 1993	
Pi (P)	<i>GSTP1</i>	GSTP1-1	11q13	Kano et al., 1987
Theta (T)	<i>GSTT11</i>	GSTT11-1	22q11.2	Meyer et al., 1991
	<i>GSTT12</i>	GSTT12-2	22q11.2	Hussey und Hayes, 1992
Zeta (Z)	<i>GSTZ1</i>	GSTZ1-1	14q24.3	Board et al., 1997

n. b. : nicht beschrieben

Die Glutathion-S-Transferasen GSTM1

Von der Glutathion-S-Transferase der Klasse M1 sind drei Allele bekannt. Bei etwa 50% der Bevölkerung besteht eine komplette Gendeletion (*GSTM1*0*) [71]. Von dem aktiven Gen existieren zwei Varianten, *GSTM1*A* und *GSTM1*B*, die sich in einer Aminosäure in Position 173 des Proteins unterscheiden: durch den Basenaustausch C–G im Gen wird Lysin (*GSTM1*A*) durch Asparagin (*GSTM1*B*) ersetzt. *GSTM1*A* und *GSTM1*B* besitzen ähnliche Eigenschaften [89]. Zu den Substraten der Glutathion-S-Transferase GSTM zählen vor allem Epoxide von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen, wie die Epoxide des Aflatoxins B1 und des Benzo(a)pyrens und andere Kohlenwasserstoffepoxide des Zigarettenrauchs [10, 42]. Diese Substanzen werden deaktiviert und damit detoxifiziert.

Die Glutathion-S-Transferasen GSTT1

Wie bei dem *GSTM1*-Polymorphismus kommen bei dem *GSTT1*-Gen Gendeletionen vor [56]. Liegt eine homozygote Gendeletion vor, kommt es zur kompletten Enzymdefizienz [48]. Diese tritt bei etwa 20% der kaukasischen Bevölkerung auf [51]. Die *GSTT1* metabolisiert vor allem kleinmolekulare Epoxide und halogenierte Alkane [10]. Dazu gehören z.B. Ethylenoxid, Methylchlorid und Methylbromid [21, 59], denen der Organismus sowohl beim Rauchen als auch durch berufliche Exposition ausgesetzt sein kann. Allerdings ist die *GSTT1* auch an der Aktivierung einer Vielzahl von Metaboliten beteiligt [48].

Die Glutathion-S-Transferasen GSTP1

Für die *GSTP1* sind drei Genotypen beschrieben. *GSTP1*A* enthält in Codon 105 ein Isoleucin und in Codon 114 ein Alanin. Bei der *GSTP1*B* kommt es an der Position 1568 (Nukleotid 313) zu einem Basenaustausch A-G. Sie setzt sich daher aus Valin in Codon 105 und Alanin in Codon 114 zusammen [19]. *GSTP1*C* hingegen trägt an beiden Stellen ein Valin, da es zusätzlich zu einer C-T Transition an Position 2293 (Nukleotid 341) kommt [4]. Die Häufigkeit der verschiedenen Polymorphismen beträgt in der englischen Bevölkerung etwa 51% für *GSTP1*A/A*, 42,5% für *GSTP1*A/B* und 6,5% für *GSTP1*B/B* [19]. Zu den Substraten der *GSTP1* gehört eine Vielzahl von potentiellen Kanzerogenen, unter ihnen auch Substanzen des Zigarettenrauchs wie Acrolein und Epoxide des Benzo(a)pyrens [21].

2 Fragestellung

In dieser Studie sollte untersucht werden, ob ein Zusammenhang besteht zwischen den Genpolymorphismen der Cytochrom P450 – Monooxygenasen CYP1A1 und CYP1B1 sowie der Glutathion-S-Transferasen *GSTP1*, *GSTM1* und *GSTT1* und einem erhöhten Risiko, an Lungenkrebs zu erkranken. Dies sollte in Abhängigkeit von den verschiedenen histologischen Tumortypen sowie in Abhängigkeit von kanzerogener Fremdstoffeinwirkung, wie sie z.B. beim Rauchen oder insbesondere am Arbeitsplatz entsteht, analysiert werden.

3 Kollektiv und Methoden

3.1 Patientenkollektiv und Kontrollgruppe

In die Studie wurden 446 Bronchialkarzinompatienten (404 Männer, 42 Frauen) und 622 Kontrollpersonen (600 Männer, 22 Frauen) eingeschlossen.

Die Rekrutierung der Patienten mit Bronchialkarzinom erfolgte aus der Poliklinik des Instituts für Arbeits- und Sozialmedizin, der Medizinischen Klinik II (Pulmonologie) und der Chirurgie des Universitätsklinikums Gießen, außerdem aus der Pneumologischen Klinik Waldhof Elgershausen in Greifenstein.

In die Studie wurden konsekutiv Patienten mit Bronchialkarzinom eingeschlossen, so fern die folgenden Kriterien erfüllt wurden und nach Aufklärung das Einverständnis für die Untersuchungen im Rahmen dieser Studie vorlag.

Einschlusskriterium war

- primäres, histologisch gesichertes Bronchialkarzinom

Als Ausschlusskriterien dienten

- schwere Leberfunktionsstörungen
- chronische Nierenfunktionsstörungen
- andere maligne Tumoren

Das Kontrollkollektiv von Patienten ohne Krebserkrankung wurde aus der Poliklinik des Instituts für Arbeits- und Sozialmedizin gewonnen. Es wurden Patienten mit nichtmalignen Erkrankungen und gesunde Personen aufgenommen. Die Ausschlusskriterien stimmten mit denen des Kontrollkollektivs überein. Die Diagnosen der Referenzgruppe sind in folgender Tabelle aufgelistet.

Tabelle 5: Referenzgruppe von Patienten ohne Lungenkreberkrankungen

Diagnosen	Kontrollpersonen ($n = 622$)
Pneumokoniosen	343
<i>Silikose</i>	<i>144</i>
<i>Asbestose</i>	<i>179</i>
<i>Fibrose anderer Ursache</i>	<i>20</i>
Chronische obstruktive Atemwegserkrankung	65
Entzündliche Lungenerkrankungen	30
Gesunde	184

Der Altersmedian stimmt in beiden Gruppen überein, der Mittelwert beträgt bei den Patienten 64,4 Jahre und bei den Kontrollpersonen 63,3 Jahre bei einer ähnlichen Verteilungsbreite von 32–88 bzw. 20–96 Jahren. Nur 4% der Karzinompatienten sind Nieraucher im Gegensatz zu 24,3% der Kontrollgruppe. Die Mehrzahl der Krebspatienten sind mittelstarke bis starke Raucher (54,3% mit 20–60 PJ), während die Kontrollpersonen, sofern sie Raucher sind, eher wenig rauchen (52,9% mit 1–20 PJ).

Tabelle 6: Untersuchtes Patientenkollektiv des Fall-Kontroll Ansatzes

Beschreibung der Kollektive		
	Patienten (<i>n</i> = 446)	Kontrollen (<i>n</i> = 622)
Geschlecht, <i>n</i> (%)		
Männlich	404 (90,6)	600 (96,5)
Weiblich	42 (9,4)	22 (3,5)
Alter (Jahre)		
Mittelwert (SA)	64,4 (8,7)	63,6 (11,1)
Median	65	65
Range	32-88	20-96
Raucherstatus, <i>n</i> (%)		
Nieraucher	18 (4,0)	151 (24,3)
Exraucher oder Raucher	398 (89,3)	469 (75,4)
1-20 Packungsjahre	79 (19,8)	248 (52,9)
21-40 Packungsjahre	123 (30,9)	135 (28,8)
41-60 Packungsjahre	93 (23,4)	37 (7,9)
>60 Packungsjahre	55 (13,8)	11 (2,3)
Packungsjahre nicht kalkulierbar	48 (12,1)	38 (8,1)
Unbekannter Raucherstatus	30 (6,7)	2 (0,3)

Innerhalb des beschriebenen Kollektivs konnten die folgenden Berufskrankheiten der BKV beobachtet werden:

Tabelle 7: Anzahl von Patienten mit Berufskrankheiten

BK-Nr.	Anzahl	Bezeichnung
2402	40	Lungenkrebskrankung durch ionisierende Strahlen
4101	144	Quarzstaublungerkrankung
4103	181	Asbeststaublungerkrankung oder durch Asbeststaub verursachte Erkrankung der Pleura
4104	39	Lungenkrebs in Verbindung mit Asbeststaublungerkrankungen, mit durch Asbestfaserstaub verursachter Erkrankung der Pleura oder einer Einwirkung einer kumulativen Asbestfaserstaub-Dosis am Arbeitsplatz von mind. 25 Faserjahren
4105	19	Pleuramesotheliom durch Asbesteinwirkung
4112	7	Lungenkrebs durch die Einwirkung von kristallinem Siliziumdioxid bei nachgewiesener Quarzstaublungerkrankung

Die histologische Einteilung der Bronchialkarzinome erfolgte anhand von Resektaten oder Biopsieproben. Nicht näher klassifizierbare Tumoren und solche mit gemischter Histologie wurden in einer gemeinsamen Untergruppe zusammengefasst.

Als häufigste histologische Form trat das Plattenepithelkarzinom mit 41,1% auf. Das großzellige Karzinom war mit 3,6% selten vertreten.

Tabelle 8: Histologische Klassifikation der Patienten mit Lungenkrebskrankungen

Histologische Klassifikation,	Patienten $n = 446$ (%)
Kleinzelliges Bronchialkarzinom	67 (15,0)
Großzelliges Bronchialkarzinom	16 (3,6)
Adenokarzinom	112 (25,1)
Plattenepithelkarzinom	183 (41,1)
Gemischt oder nicht klassifizierbar	68 (15,2)

3.2 Geräte und Materialien

Folgende Geräte und Materialien wurden verwendet:

Geräte

Autoklave :	2540 EL, truttbauer system
Drehschüttelapparat:	Stuart Scientific
Light Cycler:	Roche, Mannheim
Magnetrührer:	IKA
Mastercycler:	gradient, Eppendorf, Hamburg
Pipetten:	Abimed, Langenfeld
Reagenzglasschüttler:	REAX top, Heidolph
Tiefkühlschrank:	economic, Bosch
Tischzentrifuge:	Mikro 20, Hettich

Kleinmaterial

Alpha Box mit Rastereinsatz:	VWR international
Bechergläser:	Boro 3.3
Butterfly-Kanüle:	Butterfly 21 G, Kabe Labortechnik
Handschuhe:	no Powder, Ansell
Laborflaschen:	Simax
Light Cycler Kapillaren:	Roche, Mannheim
Light Cycler Zentrifugen-Adapter:	Roche, Mannheim
Messkolben:	Hirschmann, Eberstadt
Messzylinder:	IDL
Monovetten:	EDTA-K, Kabe Labortechnik
Pipettenspitzen:	Abimed
Reaktionsgefäße:	Eppendorf

Reagenzien

Aqua ad iniectabilia:	Baxter
Ethylendiamintetraacetat (EDTA):	Merck, Darmstadt
Gelatine:	Merck, Darmstadt
HCl:	Merck, Darmstadt
KCl:	Merck, Darmstadt

Light Cycler-Kit: FastStart DNAMasterHybridization Probes, Roche,
Mannheim

MgCl₂: Merck, Darmstadt

PCR-Primer: TIB Molbiol, Berlin
(Primersequenzen s. unten)

PCR-Sonden: TIB Molbiol, Berlin
(Sondensequenzen s. unten)

Proteinase K: Sigma

TRIS(hydroxymethyl)aminomethan: Roth, Karlsruhe

Tween 20: Merck, Darmstadt

Primersequenzen

	Forward 5'-3'	Reverse 5'-3'
Cyp1A1 msp	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCTgTg	CCTgAACCCCATTCtTgTgTTg
Cyp1A1 iva	gAACTgCCACTTCAGCTgTC	ACCAgACCAggTAgACAgAgTC
Cyp1B1	gAAATAAgAATTTTgCTCACTTgC	CTTAgAAAgtTCTTCgCCAATg

	Forward 5'-3'	Reverse 5'-3'
GSTP	ACCCAgggCTCTATgggAA	TgAgggCACAAgAAgCCCCT
GSTM1	gAACTCCCTgAAAAgCTAAAgCT	gTTgggCTCAAATATACggTgg
GSTT11	TTCCTTACTggTCCTCACATCTC	TCCCAgCTCACCggATCAT

Sondensequenzen

	LC Red-640 5'-3'	3FL 5'-3'
Cyp1A1 msp	CCACCTCAGCCTCTgAgTAgTTgggg	CACCTCCCIggCTCACACgATT
Cyp1A1 iva	CTgggAggTCTTTCTCTTCCTGGCTATC	gAAgTgTATCggTgAgACCgTTICC
Cyp1B1	AACTTTgATCCAgCTCgATTCTTggACAA	ATgACCCACTgAAgTgACCTAACCC-FL

	LC Red-640 5'-3'	3FL 5'-3'
GSTP1	TgTgAgCATCTgCACCAgggTTgggC	TgCAAATACATCTCCCTCATCTACACCAAC
GSTM1	ATggCCgCTTCCCCAgAACTCTg	TCACTCCTCCTTTACCTTgTTTCCTgCAAAA
GSTT1	TCgAAggCCgACCCAAgCTggC	CCgTgggTgCTggCTgCCAAgT

3.3 Untersuchungen

3.3.1 DNS-Isolierung

Für die DNS-Isolierung wurden Zellen aus venösem, peripherem Blut verwendet.

100 µl EDTA-Blut werden zur Lyse der Erythrozyten mit 500µl TE-Puffer (s. unten) in ein Reaktionsgefäß gegeben, gerüttelt und anschließend bei 13000rpm für 10 Sekunden zentrifugiert. Die Leukozyten setzen sich als Pellet ab. Da es sich bei ihnen um kernhaltige Zellen handelt, werden sie zur weiteren DNS-Isolierung benötigt. Um sie möglichst vollständig rein vorliegen zu haben, wird der oben beschriebene Vorgang nach Verwerfen des Überstands wiederholt. Das Pellet wird dann mit 100µl Lysis-Puffer K (s. unten) versetzt und gerüttelt. Durch Zugabe von 10µl (10 mg/ml) Proteinase K können die Zellwände zerstört und damit die DNS freigesetzt werden.

Das Gemisch wird leicht anzentrifugiert und für 45 Minuten bei 56°C, anschließend für 10 Minuten bei 95°C inkubiert. Dadurch werden noch vorhandene Proteine denaturiert sowie die Proteinase K inaktiviert. Daraufhin wird die DNS-haltige Lösung nochmals kurz zentrifugiert und bei -20°C aufbewahrt.

Tabelle 9 Herstellung von TE-Puffer

Herstellung von 10-fach TE-Puffer		
TRIS-HCL pH 8,0	100 mM	6,057 g
EDTA	10 mM	1,861 g
Aqua	500 ml	

Tabelle 10 : Herstellung von Lysis-Puffer K

Herstellung von 10-fach Lysis-Puffer K		
TRIS-HCL pH 8,3	100 mM	6,057 g
KCL	500 mM	18,64 g
MgCl ₂ (H ₂ O frei)	15 mM	0,714 g
Gelatine 0,01 %		50 mg
Aqua	500 ml	
Tween 20 5%	25 ml	

3.3.2 Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) dient der selektiven Vervielfältigung von DNS-Sequenzen. Diese in mehreren Zyklen ablaufende Technik ermöglicht es, eine gewünschte Zielsequenz aus dem ausgewählten Gen in großer Anzahl zu amplifizieren. Ist die Basenabfolge vor und hinter der Region, die amplifiziert werden soll, bekannt, werden komplementäre Oligonukleotide eingesetzt, welche als sogenannte Primer an die DNS binden. Mit Hilfe einer DNS-Polymerase und in Gegenwart der Desoxyribonukleosidtriphosphate (dNTP) dATP, dGTP, dCTP und dTTP kann der entsprechende DNS-Abschnitt synthetisiert werden.

Ein kompletter PCR-Zyklus gliedert sich grundsätzlich in drei Abschnitte.

Der Reaktionsablauf beginnt mit der Denaturierung, bei dem sich die DNS-Doppelhelix in zwei komplementäre Stränge aufteilt. Dies wird durch Erhitzen des Reaktionsansatzes auf 95°C erreicht.

Die Primer können nun an die entstandene Matrize binden (Annealing). Dabei unterscheidet sich die optimale Temperatur je nach verwendetem Primer.

Durch hitzestabile Taq-Polymerasen können die von den Primern gesetzten Startpunkte durch komplementäre dNTPs zu neuen DNS-Strängen verlängert werden (Extension). Dies geschieht bei einem Temperaturoptimum von 72°C mit einer Geschwindigkeit von etwa 75 Nukleotiden pro Sekunde von 5´ nach 3´ Richtung.

Nach diesen drei Schritten liegen die DNS-Moleküle als Doppelstrang vor, so dass der neue Zyklus wieder mit der Denaturierung beginnt. Da alle synthetisierten DNS-Stränge in den nachfolgenden Zyklen als Matrizen dienen, kommt es zu einer exponentiellen Vervielfältigung der Zielsequenz.

Das LightCycler[®] System ermöglicht die Durchführung einer kompletten PCR in weniger als 60 Minuten. Den Verlauf der PCR (Fluoreszenzkurven) kann man am angeschlossenen PC direkt verfolgen. Die eigentliche Auswertung am PC erfolgt mit der Möglichkeit einen kompletten Testreport mit allen Einstellungen auszudrucken.

Das LightCycler[®] System besteht im wesentlichen aus vier Elementen,

- 1. einer thermostatisierbaren Reaktionskammer,
- 2. dem Probenkarussell,
- 3. einer Heiz- bzw. Kühlvorrichtung und
- 4. einem Fluorimeter.

Die thermostatisierbare Reaktionskammer ist so wie das Probenkarussell aus Materialien mit geringer Wärmekapazität gefertigt. Dadurch können Aufheiz- und Abkühlraten von bis zu 20°C pro Sekunde erreicht werden.

Die Temperaturregulierung erfolgt über eine Widerstandsheizung (Heizspirale), welche die Umgebungsluft auf die entsprechende Temperatur aufheizt und einem Temperatursensor im Inneren der Reaktionskammer. Ein Ventilator am Boden der Kammer saugt die Luft über die Heizspirale an und sorgt für eine homogene Temperaturverteilung. Die warme Luft wird seitlich am Deckel wieder herausgeblasen.

Das Probenkarussell bietet Platz für 32 Kapillaren und wird durch einen Steppermotor angetrieben. Nach dem Einsetzen der Kapillaren in das Karussell sucht das Gerät automatisch nach der Zahl der Glaskapillaren, optimiert die Position der Kapillaren über dem Fluorimeter und speichert diese Werte für jede Probe ab. Die Anregung der Fluoreszenzfarbstoffe erfolgt durch ein LED über die Spitze der Kapillare, welche als optische Einheit wirkt und die emittierte Fluoreszenz gebündelt nach unten wieder abgibt. Eine Kombination von halbdurchlässigen Spiegeln und wellenlängenspezifischen Filtern leitet die emittierte Fluoreszenzstrahlung zu den drei Photohybriden (530 nm, 640 nm, 710 nm) weiter. Diese wandeln das optische Signal in ein elektrisches Signal um, welches sofort über die serielle Schnittstelle zum PC übermittelt wird. Man kann somit den Verlauf der PCR ohne Zeitverzögerung am Rechner verfolgen und bereits während des PCR-Laufs Aussagen über den Erfolg treffen.

Zur Zeit kennt man vier auf Fluoreszenz basierende Messprinzipien:

- 1. DNS interkalierende Farbstoffe
- 2. Hybridisation Probes
- 3. TaqMan™ Probes
- 4. Molecular Beacons

Bei dieser Studie wurden die Messungen mittels Hybridisation Probes durchgeführt. Die Verwendung von Hybridisation Probes ermöglicht die spezifische Detektion von PCR-Produkten, unspezifische Produkte und Primerdimere werden nicht detektiert. Zu einem Standard PCR-Ansatz werden zusätzlich zwei sequenzspezifische Oligonukleotide (Hybridisation Probes) zugefügt, welche zwischen den beiden Primern in räumlicher Nähe zueinander (1-5 Nukleotide Abstand) an die Ziel-DNS binden. Diese Hybridisation Probes sind mit zwei verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen markiert (z. B. Fluoreszein, LC Red 640). Die Detektion basiert auf dem FRET-Prinzip (fluorescence resonance energy transfer).

Binden die beiden Hybridisation Probes an der gesuchten Ziel-DNS in räumlicher Nähe und regt man gleichzeitig das Fluoreszein der ersten Hybridisation Probe an, emittiert dieses keine Fluoreszenz, sondern überträgt die Energie auf den benachbarten zweiten Fluoreszenzfarbstoff (LC Red 640). Dieser emittiert nun rote Fluoreszenz, deren Intensität in Summe direkt proportional der Menge an Ziel-DNS ist. Die Messung des Signals erfolgt einmal pro Zyklus nach dem Primer Annealing (zu diesem Zeitpunkt sind beide Hybridisation Probes an die Ziel-DNS gebunden und es erfolgt ein Energietransfer). Ungebundene Hybridisation Probes geben auf Grund der fehlenden räumlichen Nähe (diffundieren frei in der Lösung) kein Signal.

Will man nun mit Hybridisation Probes Punktmutationen detektieren, nimmt man nach der PCR eine Schmelzkurve auf. Da eine Hybridisation Probe genau im Bereich der Punktmutation an die Ziel-DNS bindet, schmilzt diese bei Vorhandensein einer Mutation (eine Basenpaarung weniger) bei niedrigerer Temperatur (einige °C) im Vergleich zu einer perfekt passenden Hybridisation Probe. Handelt es sich um einen Heterozygoten, erhält man zwei Peaks, einen bei niedrigerer Temperatur (Schmelzpunkt des Mutanten) und einen bei höherer Temperatur (Schmelzpunkt des Wildtyps).

Bei der Untersuchung der Enzym polymorphismen wurde nach folgenden Protokollen vorgegangen:

Tabelle 11: Versuchsprotokoll der PCR

	Substanzen				
	H ₂ O [µl]	for.-Primer [ng]	rev.-Primer [ng]	Sonden [µl]	DNS [µl]
CYP1A1 msp	2,15	0,75	0,25	0,2	2
CYP1A1 iva	4,25	0,5	0,25	0,2	2
CYP1B1	2,5	0,25	0,5	0,2	2
GSTP1	2,5	0,25	0,5	0,2	2
GSTM1	2,4	0,5	0,25	0,2	2
GSTT1	2,5	0,25	0,5	0,2	2

Diesen Versuchsansätzen wurden die Komponenten des LightCycler[®]-KITs von Roche den Herstellerangaben entsprechend hinzugefügt.

Tabelle 12: PCR Bedingungen für CYP1A1 msp, CYP1A1 iva und CYP1B1

	Temperatur [°C]		Dauer [Sek.]	Zyklen
Vorlauf		95	300	1
Denaturierung		95	5	
Annealing	CYP1A1 msp	59	10	
	CYP1A1 iva	56	25	
	CYP1B1	56	20	
Extension	CYP1A1 msp	72	20	50
	CYP1A1 iva	72	30	65
	CYP1B1	72	35	65
Schmelzpunkt-analyse				
Denaturierung	CYP1A1 msp	95	5	
	CYP1A1 iva	95	3	
	CYP1B1	96	3	
Absenken der Temperatur	CYP1A1 msp	54	30	
	CYP1A1 iva	46	90	
	CYP1B1	56	90	
Temperaturerhöhung 0,1 C° / Sek.	CYP1A1 msp	90	0	1
	CYP1A1 iva	80	0	1
	CYP1B1	80	0	1
Abkühlen		35	30	

Table 13: PCR Bedingungen für GSTP1, GSTM1 und GSTT1

	Temperatur [°C]		Dauer [Sek.]	Zyklen
Vorlauf	GSTP1, GSTM1	95	300	1
	GSTT1	96	300	1
Denaturierung	GSTP1, GSTM1	95	5	
	GSTT1	96	5	
Annealing	GSTP1	55	15	
	GSTM1	62	20	
	GSTT1	65	30	
Extension	GSTP1	72	25	65
	GSTM1	72	30	65
	GSTT1	72	30	55
Schmelzpunkt-analyse				
Denaturierung	GSTP1, GSTM1	94	3	
	GSTT1	96	3	
Absenken der Temperatur	GSTP1, GSTM1	46	90	
	GSTT1	56	90	
Temperaturerhöhung 0,1 C° / Sek.		80	0	1
Abkühlen		35	30	

In jedem Extensionszyklus wurde die Fluoreszenz der Sonden gemessen (Acquisition mode: single), wobei das Fluoreszenzsignal mit höherer DNS-Konzentration anstieg.

Das Ablesen der Schmelzpunkte erfolgte im kontinuierlichen Modus während der langsamen Temperaturerhöhung.

3.4 Statistik

Die Allelfrequenzen wurden mit dem Hardy-Weinberg-Gesetz ermittelt ($p^2 + 2pq + q^2 = 1$).

Die Odds-Ratio (geschätztes Risiko) wurde mittels binär logistischer Regression bestimmt.

Dazu wurde die Software SPSS, Version 11.5, eingesetzt. Sie basiert auf folgender

Vierfeldertafel:

	Wildtypen	Variante Typen
Kontrollen	A	B
Fälle	C	D

Die rohe Odds Ratio berechnet sich anhand der Formel: $OR = A \times D / B \times C$

Durch die angewandte logistische Regression wurde eine Adjustierung nach Alter, Geschlecht und Packungsjahren durchgeführt. Eine Signifikanzbestimmung wurde durch 95%-Konfidenzintervalle erreicht.

Die Bestimmung der p-Werte erfolgte durch den Chi-Quadrat-Test, bei einer erwarteten Häufigkeit kleiner als fünf wurde der exakte Test nach Fisher durchgeführt. Ein p-Wert $< 0,05$ wurde als statistisch signifikant angenommen.

4 Ergebnisse

Es wurden 446 Patienten mit Bronchialkarzinom und 622 Kontrollpersonen untersucht. Die Ergebnisse wurden nach den Genotypen untergliedert.

Hinsichtlich der Nomenklatur der CYP1A1 sei auf die Einleitung, Kapitel 1.3.1, verwiesen.

4.1 Ermittlung der Allelfrequenz in der Bevölkerung

4.1.1 Die Cytochromoxidase CYP1A1 T6235C

Beim Cytochrom *CYP1A1* MspI-Allel handelt es sich um eine Punktmutation an der Stelle 6235, bei der Thymin (Wildtyp) gegen Cytosin (Mutante) ausgetauscht wird.

Bezüglich des *CYP1A1* T6235C - Gens fanden sich in der Kontrollgruppe n= 517 (83,1%) homozygote Wildtypen (wt/wt), n=104 (16,7%) Heterozygote (wt/mt) und lediglich ein (0,2%) homozygoter Mutant (mt/mt). Bei den an Bronchialkarzinom erkrankten Patienten fanden sich folgende Häufigkeiten hinsichtlich der Genpolymorphismen: n=387 (86,8%) homozygote Wildtypen (wt/wt), n=57 (12,8%) Heterozygote (wt/mt) und zwei (0,4%) homozygote Mutanten (mt/mt). Die daraus errechneten Allelfrequenzen können Tabelle 14 entnommen werden. Die Allelfrequenz der mutierten Varianten beträgt in der Kontrollgruppe 0,085 und in der Gruppe der Patienten mit primärer Lungenkrebserkrankung 0,068. Die Allelfrequenzen sind in beiden Personengruppen vergleichbar; es ergeben sich keine signifikanten Unterschiede (p= 0,10)

Tabelle 14: Genotypverteilung und Allelfrequenz des CYP1A1 T6235C

	Genotypverteilung			Allelfrequenzen		p-Wert
	wt/wt	wt/mt	mt/mt	wt	mt	
Kontrollen	517 (83,1)	104 (16,7)	1 (0,2)	0,915	0,085	
Bronchialkarzinom	387 (86,8)	57 (12,8)	2 (0,4)	0,932	0,068	0,103

4.1.2 Die Cytochromoxidase CYP1A1 A4889G

Eine weitere Punktmutation des *CYP1A1* findet sich auf Exon 7 an Position 4889, an der Adenin durch Guanin ersetzt wird.

Bezüglich des *CYP1A1* A4889G-Allels wurde folgende Verteilung beobachtet: In der Kontrollgruppe traten n=562 (90,3 %) homozygote Wildtypen (wt/wt), n=59 (9,5%)

Heterozygote (wt/mt) und nur ein (0,2%) homozygoter Mutant (mt/mt) auf. Bei den Patienten mit Lungenkrebs kamen n=409 (91,7%) homozygote Wildtypen (wt/wt), n=36 (8,1%) Heterozygote (wt/mt) und ebenso lediglich ein (0,2%) homozygoter Mutant (mt/mt) vor. Die Allelfrequenz ließ sich in der Kontrollgruppe mit 0,049 für das mutierte Allel errechnen, in der Patientengruppe lag die entsprechende Frequenz bei 0,043. Einen Überblick gibt Tabelle 15. Es traten keine statistisch signifikanten Unterschiede in der Verteilung der Allelfrequenzen auf (p=0,45).

Tabelle 15: Genotypverteilung und Allelfrequenz des CYP1A1 A4889G

	Genotypverteilung			Allelfrequenzen		p-Wert
	wt/wt	wt/mt	mt/mt	wt	mt	
Kontrollen	562 (90,3)	59 (9,5)	1 (0,2)	0,951	0,049	
Bronchialkarzinom	409 (91,7)	36 (8,1)	1 (0,2)	0,957	0,043	0,449

4.1.3 Die Cytochromoxidase CYP1B1

Eine Punktmutation im Exon 3 des Gens tauscht an Position 1640 Cytosin mit Guanin.

Bei der Untersuchung des *CYP1B1*-Gens wurde folgende Verteilung dieses Genpolymorphismus gefunden: Die Kontrollgruppe zeigte n=206 (33,1%) homozygote Wildtypen (wt/wt), n=296 (47,6%) Heterozygote (wt/mt) und n=120 (19,3%) homozygote Mutanten (mt/mt). Bei den Patienten mit Bronchialkarzinom traten n=152 (34,1%) homozygote Wildtypen (wt/wt), n=199 (44,6%) Heterozygote (wt/mt) und n=95 (21,3%) homozygote Mutanten (mt/mt) auf. Der Tabelle 16 sind die errechneten Allelfrequenzen zu entnehmen. In der Kontrollgruppe beträgt die Allelfrequenz 0,431 für das mutante Allel, bei den Lungenkrebspatienten entsprechend 0,436. Signifikante Unterschiede zeigten sich nicht (p=0,74).

Tabelle 16: Genotypverteilung und Allelfrequenz des CYP1B1

	Genotypverteilung			Allelfrequenzen		p-Wert
	wt/wt	wt/mt	mt/mt	wt	mt	
Kontrollen	206 (33,1)	296 (47,6)	120 (19,3)	0,569	0,431	
Bronchialkarzinom	152 (34,1)	199 (44,6)	95 (21,3)	0,564	0,436	0,743

4.1.4 Die Glutathion-S-Transferase *GSTP1*

Durch einen Basenaustausch A-G kommt es in Codon 105 zu einem Austausch von Isoleucin durch Valin.

Bezüglich des *GSTP1*-Gens traten in der Kontrollgruppe n=298 (47,9%) homozygote Wildtypen (wt/wt), n=254 (40,8%) Heterozygote (wt/mt) und n=70 (11,3%) homozygote Mutanten (mt/mt) auf. Bei den an Bronchialkarzinom erkrankten Patienten lagen diese Verhältnisse bei n=198 (44,4%) homozygoten Wildtypen (wt/wt), n=186 (41,7%) Heterozygoten (wt/mt) und n=62 (13,9%) homozygoten Mutanten (mt/mt).

Die daraus errechneten Allelfrequenzen sind in Tabelle 17 aufgeführt. Die Allelfrequenz für die mutierte Variante beträgt in der Kontrollgruppe 0,317 für das mutierte Allel, bei den Erkrankten 0,348. Eine signifikante Differenz in der Verteilung der Genotypen war nicht zu beobachten ($p=0,26$).

Tabelle 17

Genotypverteilung und Allelfrequenz des *GSTP1*

	Genotypverteilung			Allelfrequenzen		p-Wert
	wt/wt	wt/mt	mt/mt	wt	mt	
Kontrollen	298 (47,9)	254 (40,8)	70 (11,3)	0,683	0,317	
Bronchialkarzinom	198 (44,4)	186 (41,7)	62 (13,9)	0,652	0,348	0,256

4.1.5 Die Glutathion-S-Transferase *GSTM1*

Bei dem *GSTM1*-Gen kommen in der Bevölkerung komplette Gendeletionen vor.

Bei der Untersuchung des *GSTM1*-Gens wurde folgende Verteilung der Genpolymorphismen gefunden: Die Kontrollgruppe zeigte n=328 (52,7%) positive Allele und n=294 (47,3%) Personen mit Null-Allel. Bei den Patienten traten n=212 (47,5%) Wildtypen und n=234 (52,5%) Null-Genotypen auf. Die leichten Unterschiede in der Verteilung waren nicht signifikant (s. Tabelle 18)

Tabelle 18

Genotypverteilung des *GSTM1*

	Genotypverteilung		p-Wert
	positiv	negativ	
Kontrollen	328 (52,7)	294 (47,3)	
Bronchialkarzinom	212 (47,5)	234 (52,5)	0,094

4.1.6 Die Glutathion-S-Transferase GSTT1

Wie bei dem *GSTM1*-Polymorphismus kommen bei dem *GSTT1*-Gen Deletionen vor.

Bei dem *GSTT1*-Allel wurde die in Tabelle 19 beschriebene Verteilung beobachtet: In der Kontrollgruppe wurde bei n=507 (81,5%) Personen das aktive Gen und bei n=115 (18,5%) die Gendeletion gefunden. Bei den Patienten kamen n=371 (83,2%) positive Allele und n=75 (16,8%) Null-Genotypen vor. Die Verteilung der Genotypen zeigte zwischen Kontrollen und Patienten keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Tabelle 19

Genotypverteilung und Allelfrequenz des *GSTT1*

	Genotypverteilung		p-Wert
	positiv	negativ	
Kontrollen	507 (81,5)	115 (18,5)	
Bronchialkarzinom	371 (83,2)	75 (16,8)	0,481

4.2 Genpolymorphismen in Abhängigkeit vom histologischen Tumortyp

Ein gegebenenfalls vorhandener Einfluss des histologischen Tumortyps auf die Verteilung der Polymorphismen sollte ebenfalls untersucht werden. Die Anzahl der Patienten in den Untergruppen mit den jeweiligen histologischen Tumordiagnosen enthält Tabelle 8, S.19. Zu beantworten war insbesondere die Frage, ob sich die Allelhäufigkeiten bei Patienten mit Erkrankungen an kleinzelligem Lungenkrebs von denjenigen Patienten mit nicht kleinzelligen Tumoren unterscheiden.

4.2.1 Polymorphismus der Cytochromoxidase *CYP1A1 T6235C*

Die in Abhängigkeit von der Histologie der Lungentumoren gruppierten Genotypverteilung für das *CYP1A1 T6235C*-Gen sind in Tabelle 20 enthalten.

Bei Unterteilung der Genotypausprägung nach dem histologischen Typ des primären Bronchialkarzinoms wurden für das *CYP1A1 T6235C*-Gen folgende Häufigkeiten festgestellt: Der Wildtyp lag zwischen 81,2% bei großzelligen Karzinomen und 91,2% für die gemischten oder nicht näher klassifizierbaren Karzinomtypen. Ein mutantes Allel war zwischen 8,8% (gemischte oder nicht näher klassifizierbare Karzinomtypen) und 18,8% bei großzelligen Karzinomen vorhanden. Homozygot mutierte Varianten waren selten und insgesamt nur bei 2 Patienten (0,4%), einem Patienten mit Plattenepithelkarzinom und einem mit kleinzelligem Bronchialkarzinom, nachweisbar.

Signifikante Unterschiede zwischen den histologischen Tumortypen waren nicht feststellbar.

Tabelle 20

Genotypverteilung für das *CYP1A1 T6235C*-Gen in Abhängigkeit vom histologischen Tumortyp

	wt/wt	wt/mt	mt/mt	wt-Allel	mt-Allel	p-Wert*
Kontrollen	517 (83,1)	104 (16,7)	1 (0,2)	0,915	0,085	-
Bronchialkarzinom	387 (86,8)	57 (12,8)	2 (0,4)	0,932	0,068	0,103
- kleinzelliges Karzinom	60 (89,5)	6 (9,0)	1 (1,5)	0,940	0,060	0,175
- großzelliges Karzinom	13 (81,2)	3 (18,8)	0	0,906	0,094	0,742 ^F
- Adenokarzinom	97 (86,6)	15 (13,4)	0	0,933	0,067	0,358
- Plattenepithelkarzinom	155 (84,7)	27 (14,8)	1 (0,5)	0,921	0,079	0,613
- gemischt / nicht klassifizierbar	62 (91,2)	6 (8,8)	0	0,956	0,044	0,086

* p-Wert gegenüber Kontrollen

F: Fishers exakter Test

4.2.2 Polymorphismus der Cytochromoxidase *CYP1A1 A4889G*

Die Genotypverteilung des *CYP1A1 A4889G*-Gens wurde in Abhängigkeit von der Histologie der aufgetretenen Lungentumoren betrachtet. In Tabelle 21 ist die Verteilung der Genotypausprägung der Patienten in den Untergruppen und die Allelfrequenzen aufgeführt. Die Allelfrequenzen lagen bei den unterschiedlichen histologischen Karzinomtypen für die Wildtypausprägung zwischen 0,951 (Plattenepithelkarzinom und Kontrollen) und 1 (großzelliges Karzinom). Es kam lediglich ein Patient (0,2%) mit homozygot mutierter

Variante vor, welcher an einem Adenokarzinom erkrankt war. Bei den Patienten mit großzelligem Karzinom wurden keine mutierten Allele gefunden, alle 16 Patienten trugen die homozygote Wildtypvariante.

Die nach histologischen Tumorarten unterteilte Genotypausprägung zeigte keine statistisch signifikanten Unterschiede (p-Werte >0,39).

Tabelle 21

Genotypverteilung für das *CYP1A1 A4889G*-Gen in Abhängigkeit vom histologischen Tumortyp

	wt/wt	wt/mt	mt/mt	wt-Allel	mt-Allel	P-Wert
Kontrollen	562 (90,3)	59 (9,5)	1 (0,2)	0,951	0,049	
Bronchialkarzinom	409 (91,7)	36 (8,1)	1 (0,2)	0,957	0,043	0,449
- kleinzelliges Karzinom	61 (91,0)	6 (9,0)	0	0,955	0,045	0,855
- großzelliges Karzinom	16 (100)	0	0	1	0	0,386 ^F
- Adenokarzinom	104 (92,8)	7 (6,3)	1 (0,9)	0,960	0,040	0,400
- Plattenepithelkarzinom	165 (90,2)	18 (9,8)	0	0,951	0,049	0,939
- gemischt / nicht klassifizierbar	63 (92,9)	5 (7,4)	0	0,963	0,037	0,539

4.2.3 Polymorphismus der Cytochromoxidase *CYP1B1*

Die Verteilung der Genotypausprägungen des *CYP1B1*-Gens wurde in Abhängigkeit vom histologischen Tumortyp betrachtet. Den Vergleich zwischen den Untergruppen zeigt Tabelle 22.

Die Allelfrequenzen für das Wildallel verteilten sich zwischen 0,531 (Adenokarzinom) und 0,612 (kleinzelliges Karzinom).

Der homozygote Wildtyp (wt/wt) kam zwischen 41,8% bei kleinzelligen Karzinomen und 31,1% bei Patienten mit Plattenepithelkarzinom vor. Ein mutiertes Allel (wt/mt) fand sich in 38,4% der Fälle bei Patienten mit Adenokarzinom bis zu 56,2% bei großzelligen Karzinomen. Das Vorkommen des homozygot mutierten Allels (mt/mt) lag zwischen 12,5% beim großzelligen Karzinom und 27,7% beim Adenokarzinom. Bei Patienten mit kleinzelligem Karzinom erschien der Anteil der homozygoten Wildtypen gegenüber den Kontrollen und der Gesamtzahl der Patienten erhöht (41,8% im Vergleich zu 33,1 bzw. 34,1%). Bei Untersuchung der Signifikanz ergab sich jedoch ein P-Wert von $p=0,154$, so dass dieser Unterschied nicht signifikant war.

Insgesamt fanden sich für die Verteilung der Genotypausprägung des *CYP1B1*-Gens keine signifikanten Unterschiede bei den verschiedenen histologischen Tumortypen.

Tabelle 22

Genotypverteilung für das *CYP1B1*-Gen in Abhängigkeit vom histologischen Tumortyp

	wt/wt	wt/mt	mt/mt	wt-Allel	mt-Allel	P-Wert
Kontrollen	206 (33,1)	296 (47,6)	120 (19,3)	0,569	0,431	
Bronchialkarzinom	152 (34,1)	199 (44,6)	95 (21,3)	0,564	0,436	0,743
- kleinzelliges Karzinom	28 (41,8)	26 (38,8)	13 (19,4)	0,612	0,388	0,154
- großzelliges Karzinom	5 (31,3)	9 (56,2)	2 (12,5)	0,594	0,406	0,875
- Adenokarzinom	38 (33,9)	43 (38,4)	31 (27,7)	0,531	0,469	0,867
- Plattenepithelkarzinom	57 (31,1)	87 (47,6)	39 (21,3)	0,549	0,451	0,617
- gemischt / nicht klassifizierbar	24 (35,3)	34 (50,0)	10 (14,7)	0,603	0,397	0,718

4.2.4 Polymorphismus der Glutathion-S-Transferase *GSTP1*

Die Verteilung der *GSTP1*-Genotypen wurde nach Einteilung der Patienten nach dem histologischen Tumortyp verglichen. Einen Überblick gibt Tabelle 23.

Die homozygote Wildtypausprägung lag bei den verschiedenen histologischen Typen zwischen 42,8% (Adenokarzinom) und 48,5% (gemischte oder nicht klassifizierbare Tumoren), bei den großzelligen Karzinomen allerdings mit 31,2% deutlich niedriger. Dieser Unterschied war jedoch nicht statistisch signifikant.

Die Häufigkeit der heterozygoten Form (wt/mt) lag zwischen 38,4% beim Adenokarzinom und 50,0% beim großzelligen Karzinom.

Die homozygot mutierte Variante kam weniger häufig vor mit 3,0% bei den gemischten oder nicht klassifizierbaren Tumoren bis 18,8% bei den großzelligen und den Adenokarzinomen. Bei keiner Untergruppe fand sich eine statistisch signifikante Abweichung der Genotypverteilung im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Tabelle 23

Genotypverteilung für das *GSTP1*-Gen in Abhängigkeit vom histologischen Tumortyp

	wt/wt	wt/mt	mt/mt	wt-Allel	mt-Allel	P-Wert
Kontrollen	298 (47,9)	254 (40,8)	70 (11,3)	0,683	0,317	
Bronchialkarzinom	198 (44,4)	186 (41,7)	62 (13,9)	0,652	0,348	0,256
- kleinzelliges Karzinom	31 (46,3)	27 (40,3)	9 (13,4)	0,664	0,336	0,798
- großzelliges Karzinom	5 (31,2)	8 (50,0)	3 (18,8)	0,563	0,438	0,188
- Adenokarzinom	48 (42,8)	43 (38,4)	21 (18,8)	0,621	0,379	0,324
- Plattenepithelkarzinom	81 (44,3)	75 (40,9)	27 (14,8)	0,648	0,352	0,385
- gemischt / nicht klassifizierbar	33 (48,5)	33 (48,5)	2 (3,0)	0,728	0,272	0,923

4.2.5 Polymorphismus der Glutathion-S-Transferase *GSTM1*

Die Unterteilung der Genotypausprägungen des *GSTM1*-Gens nach histologischen Tumortypen zeigte folgende Unterschiede: Die Häufigkeit für die Gendeletion verteilte sich zwischen 43,8% bei den großzelligen und 58,8% bei den gemischten oder nicht klassifizierbaren Karzinomen. Eine Übersicht zeigt Tabelle 24.

Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in der Genotypverteilung zwischen den verschiedenen histologischen Tumorarten, die p-Werte lagen stets über 0,07.

Tabelle 24

Genotypverteilung für das *GSTM1*-Gen in Abhängigkeit vom histologischen Tumortyp

	positiv	negativ	p-Wert
Kontrollen	328 (52,7)	294 (47,3)	
Bronchialkarzinom	212 (47,5)	234 (52,5)	0,094
- kleinzelliges Karzinom	33 (49,3)	34 (50,7)	0,588
- großzelliges Karzinom	9 (56,2)	7 (43,8)	0,781
- Adenokarzinom	59 (52,7)	53 (47,3)	0,992
- Plattenepithelkarzinom	83 (45,4)	100 (54,6)	0,079
- gemischt / nicht klassifizierbar	28 (41,2)	40 (58,8)	0,070

4.2.6 Polymorphismus der Glutathion-S-Transferase *GSTT1*

Bei Betrachtung der Gendeletion des *GSTT1*-Gens in Bezug auf den histologischen Typ konnten die in Tabelle 25 dargestellten Verteilungen festgestellt werden. Das Vorkommen des Null-Genotyps lag bei allen histologischen Typen zwischen 7,4% (gemischte oder nicht klassifizierbare Karzinome) und 21,3% (Plattenepithelkarzinom). Die Genotypausprägung bei den verschiedenen histologischen Tumortypen zeigte bis auf die Patienten mit gemischten oder nicht näher klassifizierbaren Tumortypen, bei denen die *GSTT1* Deletionen selten waren, keine relevanten Unterschiede (p-Werte >0,05).

Tabelle 25

Genotypverteilung für das *GSTT1*-Gen in Abhängigkeit vom histologischen Tumortyp

	positiv	negativ	P-Wert
Kontrollen	507 (81,5)	115 (18,5)	
Bronchialkarzinom	371 (83,2)	75 (16,8)	0,481
- kleinzelliges Karzinom	54 (80,6)	13 (19,4)	0,855
- großzelliges Karzinom	13 (81,2)	3 (18,8)	1,000 ^F
- Adenokarzinom	97 (86,6)	15 (13,4)	0,193
- Plattenepithelkarzinom	144 (78,7)	39 (21,3)	0,393
- gemischt / nicht klassifizierbar	63 (92,6)	5 (7,4)	0,021

F: Fishers exakter Test

4.3 Abschätzung des Lungenkrebs-Risikos

Im Folgenden sollte das mit den Polymorphismen assoziierte Lungenkrebsrisiko abgeschätzt werden. Wegen der Seltenheit der homozygoten Mutanten (mt/mt) des *CYP1A1 T6235C* und des *CYP1A1 A4889G* wurden die Personen mit mindestens einem mutierten Allel zusammengefasst (wt/mt oder mt/mt). Bei der *CYP1B1* und der *GSTP1* wurde entsprechend verfahren. Die Risiko-Kalkulationen (Odds-Ratio) wurden durchgeführt gegenüber den Wildtypen. Dabei wurde nach Alter, Geschlecht und Packungsjahren adjustiert um eventuell vorhandene Einflüsse auszugleichen. Auch in dieser Risikoabschätzung wurden die histologischen Tumorarten getrennt betrachtet.

4.3.1 Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Cytochromoxidase CYP1A1 T6235C

Bei den Patienten mit großzelligem Karzinomen sowie den Patienten mit gemischten oder nicht näher klassifizierbaren Tumortypen errechnet sich das höchste Risiko mit OR=2,21, welches aber bei einem Konfidenzintervall von 0,28-17,71 (großzellige Karzinomtypen) bzw. 0,81-6,05 (gemischte oder nicht näher klassifizierbare Tumortypen) statistisch nicht signifikant erhöht war. Das Lungenkrebsrisiko bei Nachweis eines mutanten Allels lag unabhängig vom histologischen Tumortyp bei OR=1,06 und unterschied sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe.

Tabelle 26

Erkrankungsrisiko an Lungenkrebs bei Nachweis mindestens eines mutanten Allels geschichtet nach dem histologischen Typen

	wt/wt	wt/mt oder mt/mt	Odds Ratio (95%-KI)
Kontrollen	517 (83,1)	105 (16,9)	
Bronchialkarzinom	387 (86,8)	59 (13,2)	1,06 (0,70-1,60)
- kleinzelliges Karzinom	60 (89,6)	7 (10,4)	1,6 (0,65-3,95)
- großzelliges Karzinom	13 (81,2)	3 (18,8)	2,21 (0,28-17,71)
- Adenokarzinom	97 (86,6)	15 (13,4)	1,18 (0,61-2,27)
- Plattenepithelkarzinom	155 (84,7)	28 (15,3)	0,83 (0,49-1,41)
- gemischt / nicht klassifizierbar	62 (91,2)	6 (8,8)	2,21 (0,81-6,05)

KI= Konfidenzintervall

4.3.2 Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Cytochromoxidase CYP1A1 A4889G

Bei der Untersuchung des Lungenkrebsrisikos, unterteilt nach den histologischen Tumorarten, ließ sich für die CYP1A1 A4889G-Genpolymorphismen folgendes feststellen: Das höchste Risiko errechnete sich für die Patienten mit gemischten oder nicht näher klassifizierbaren Tumoren mit einer OR=1,54. Das Konfidenzintervall zeigte jedoch keine statistische Signifikanz (0,49-4,89). Bei den kleinzelligen Karzinomen deutete sich eine leichte Risikosenkung für die mutierten Varianten an (OR=0,92), die aber bei einem Konfidenzintervall von 0,34-2,5 auch nicht signifikant war. Auch bei den anderen histologischen Typen war keine signifikante Risikosteigerung in Abhängigkeit von den Genvarianten zu finden (s. Tabelle 27). Unabhängig vom Tumortyp fand sich bei Nachweis

mindestens eines mutierten Allels eine OR von 1,09 und kein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe.

Tabelle 27

Erkrankungsrisiko an Lungenkrebs bei Nachweis mindestens eines mutanten Allels geschichtet nach dem histologischen Typen

	wt/wt	wt/mt oder mt/mt	Odds Ratio (KI)
Kontrollen	562 (90,3)	60 (9,6)	
Bronchialkarzinom	409 (91,7)	37 (8,3)	1,09 (0,63-1,88)
- kleinzelliges Karzinom	61 (91,0)	6 (9,0)	0,92 (0,34-2,5)
- großzelliges Karzinom	16 (100)	0	nicht definierbar
- Adenokarzinom	104 (92,8)	8 (7,1)	1,03 (0,46-2,34)
- Plattenepithelkarzinom	165 (90,2)	18 (9,8)	1,32 (0,60-2,88)
- gemischt / nicht klassifizierbar	63 (92,9)	5 (7,4)	1,54 (0,49-4,89)

4.3.3 Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Cytochromoxidase CYP1B1

Bei der Untersuchung des Lungenkrebsrisikos unterteilt nach den histologischen Tumorarten fielen bei dem *CYP1B1*-Gen leichte Differenzen in Abhängigkeit der Genvarianten auf. Eine Zusammenstellung zeigt Tabelle 28.

Es zeigte sich eine marginale Risikominderung beim Plattenepithelkarzinom (OR=0,91) und besonders beim großzelligem Karzinom (OR=0,42) bei Patienten mit mindestens einer mutierten Variante. Die 95%-Konfidenzintervalle (0,58-1,42 bzw. 0,09-1,97) ließen diese Ergebnisse allerdings als nicht signifikant erscheinen. Die erhöhte OR bei den Patienten mit kleinzelligem Karzinom (OR=1,41) war ebenfalls statistisch nicht signifikant (KI: 0,76-2,62). Das Lungenkrebsrisiko bei Vorliegen mindestens eines mutierten Allels unabhängig vom histologischen Tumortyp lag bei OR=1,01 und unterschied sich nicht von dem der Kontrollgruppe.

Tabelle 28

Erkrankungsrisiko an Lungenkrebs bei Nachweis mindestens eines mutanten Allels
geschichtet nach den histologischen Typen

	wt/wt	wt/mt oder mt/mt	Odds Ratio (KI)
Kontrollen	206 (33,1)	416 (66,9)	
Bronchialkarzinom	152 (34,1)	294 (65,9)	1,01 (0,73-1,39)
- kleinzelliges Karzinom	28 (41,8)	39 (58,2)	1,41 (0,76-2,62)
- großzelliges Karzinom	5 (31,3)	11 (68,7)	0,42 (0,09-1,97)
- Adenokarzinom	38 (33,9)	74 (66,1)	1,00 (0,62-1,63)
- Plattenepithelkarzinom	57 (31,1)	126 (68,9)	0,91 (0,58-1,42)
- gemischt / nicht klassifizierbar	24 (35,3)	44 (64,7)	1,18 (0,64-2,20)

4.3.4 Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase *GSTP1*

Nach Unterteilung in Gruppen in Abhängigkeit von dem histologischen Tumortyp wurde das mit den verschiedenen Genotypausprägungen assoziierte Erkrankungsrisiko betrachtet. Als höchstes geschätztes Risiko zeigte sich bei den großzelligen Tumortypen eine Odds Ratio von 2,27. Bei einem Konfidenzintervall von 0,59-8,74 war dies jedoch nicht statistisch signifikant. Eine leichte Risikominderung konnte beim kleinzelligen Karzinom (OR=0,85) und bei den gemischten oder nicht klassifizierbaren Tumortypen (OR=0,80) festgestellt werden. Auch hier zeigten sich aber keine statistisch signifikanten Unterschiede (s. Tabelle 29). Das Erkrankungsrisiko unabhängig vom histologischen Tumortyp war mit OR=1,03 nicht erhöht im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Tabelle 29

Erkrankungsrisiko an Lungenkrebs bei Nachweis mindestens eines mutanten Allels
geschichtet nach den histologischen Typen

	wt/wt	wt/mt oder mt/mt	Odds Ratio (KI)
Kontrollen	298 (47,9)	324 (52,1)	
Bronchialkarzinom	198 (44,4)	248 (55,6)	1,03 (0,76-1,39)
- kleinzelliges Karzinom	31 (46,3)	36 (53,7)	0,85 (0,46-1,57)
- großzelliges Karzinom	5 (31,3)	11 (68,8)	2,27 (0,59-8,74)
- Adenokarzinom	48 (42,9)	64 (57,1)	1,08 (0,68-1,72)
- Plattenepithelkarzinom	81 (44,3)	102 (55,7)	1,03 (0,68-1,57)
- gemischt / nicht klassifizierbar	33 (48,5)	35 (51,5)	0,80 (0,44-1,45)

4.3.5 Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase *GSTM1*

Bei der Ermittlung des Lungenkrebsrisikos zeigte sich eine gerade signifikante Risikoerhöhung bei den gemischten oder nicht näher klassifizierbaren Karzinomen mit einer OR von 1,88 und einem Konfidenzintervall von 1,01-3,50. Knapp unterhalb der Signifikanzgrenze war die Risikoerhöhung bei Patienten mit Plattenepithelkarzinom mit einer OR von 1,51 bei einem Konfidenzintervall von 0,99 bis 2,29. Bei den anderen histologischen Varianten konnten keine signifikanten Unterschiede in der Risikoverteilung beschrieben werden. Dies wird in Tabelle 30 ersichtlich. Auch unabhängig vom histologischen Tumortyp zeigte sich mit einer OR=1,34 und dem dazu gehörigen Konfidenzintervall von 0,99-1,81 kein Unterschied zur Kontrollgruppe.

Tabelle 30

Erkrankungsrisiko an Lungenkrebs bei Nachweis eines mutanten Allels geschichtet nach den histologischen Typen

	positiv	negativ	Odds Ratio (KI)
Kontrollen	328 (52,7)	294 (47,3)	
Bronchialkarzinom	212 (47,5)	234 (52,5)	1,34 (0,99-1,81)
- kleinzelliges Karzinom	33 (49,3)	34 (50,7)	1,04 (0,57-1,90)
- großzelliges Karzinom	9 (56,2)	7 (43,8)	1,26 (0,38-4,14)
- Adenokarzinom	59 (52,7)	53 (47,3)	0,93 (0,59-1,48)
- Plattenepithelkarzinom	83 (45,4)	100 (54,6)	1,51 (0,99-2,29)
- gemischt / nicht klassifizierbar	28 (41,2)	40 (58,8)	1,88 (1,01-3,50)

4.3.6 Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase *GSTT1*

Die Ergebnisse für den *GSTT1*-Polymorphismus finden sich in Tabelle 31. Das höchste geschätzte Risiko errechnete sich für die Gruppe der Plattenepithelkarzinome mit einer OR=1,77. Bei den gemischten oder nicht klassifizierbaren und den Adenokarzinomen deutete sich eine leichte Risikosenkung für den Null-Genotyp an (OR=0,46 bzw. 0,63). Wie der Tabelle 31 zu entnehmen ist, waren diese Unterschiede aber nicht statistisch signifikant. Bei keinem der histologischen Typen war eine signifikante Risikosteigerung in Abhängigkeit von

den Genvarianten zu finden. Auch unabhängig vom histologischen Tumortyp unterschied sich das Lungenkrebsrisiko für einen Polymorphismus nicht signifikant von demjenigen der Kontrollgruppe.

Tabelle 31

Erkrankungsrisiko an Lungenkrebs bei Nachweis eines mutanten Allels geschichtet nach den histologischen Typen

	positiv	negativ	Odds Ratio (KI)
Kontrollen	507 (81,5)	115 (18,5)	
Bronchialkarzinom	371 (83,2)	75 (16,8)	0,88 (0,59-1,32)
- kleinzelliges Karzinom	54 (80,6)	13 (19,4)	1,13 (0,53-2,41)
- großzelliges Karzinom	13 (81,2)	3 (18,8)	1,74 (0,45-6,78)
- Adenokarzinom	97 (86,6)	15 (13,4)	0,63 (0,32-1,24)
- Plattenepithelkarzinom	144 (78,7)	39 (21,3)	1,77 (0,70-1,98)
- gemischt / nicht klassifizierbar	63 (92,6)	5 (7,4)	0,46 (0,17-1,22)

4.4 Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum

Das Lungenkrebsrisiko steigt mit dem Tabakkonsum an. Es sollte daher die Abhängigkeit vom Rauchverhalten untersucht werden. Zur Abschätzung der kumulativen Dosis durch das Rauchen wurden die Stratifizierungen nach den Packungsjahren durchgeführt. Das Risiko an Lungenkrebs zu erkranken stieg mit dem Rauchkonsum erwartungsgemäß deutlich an. In Abhängigkeit von der kumulativen Dosis war das Risiko signifikant erhöht.

4.4.1 Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Cytochromoxidase CYP1A1 T6235C in

Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum

Für den Wildtyp des *CYP1A1 T6235C* (wt/wt) konnte eine Odds Ratio von OR=71,45 mit einem 95%-Konfidenzintervall von 26,42 bis 193,23 für starke Raucher mit mehr als 60 Packungsjahre ermittelt werden. Bei starken Rauchern mit über 60 Packungsjahren und mindestens einem mutierten Allel war das Risiko mit OR=27,74 (95%-KI 4,34-177,25) ebenfalls signifikant erhöht. Es war damit deutlich niedriger als beim Vorliegen eines

Wildtyps, unterschied sich jedoch nicht signifikant von diesem ($p=0,26$). Wie aus Tabelle 32 zu entnehmen ist, stieg das Erkrankungsrisiko in der Gruppe mit mutierten Allelen weniger stark an, als in der Gruppe mit homozygotem Wildtyp. Dieser Unterschied war in jeder Stratifizierung bei p -Werten stets über 0,1 nicht signifikant.

Bei Nachweis eines mutanten Allels fand sich ein leicht erhöhtes, statistisch aber nicht signifikantes Risiko auch für Nieraucher (OR= 1,53; 95%-Konfidenzintervall: 0,3-7,82).

Tabelle 32

Erkrankungsrisiko nach Zigarettenkonsum bei *CYP1A1 T6235C*-Polymorphismen

	wt/wt	OR	(KI)	wt/mt; mt/mt	OR	(KI)	p
Nieraucher	16 / 130	1,00		2 / 21	1,53	(0,3-7,82)	0,61
Raucher / Exraucher	343 / 386	10,10	(5,54-18,42)	55 / 83	7,99	(3,85-16,59)	0,12
1-20 Packungsjahre	63 / 208	3,23	(1,69-6,17)	16 / 40	4,55	(1,92-10,78)	0,30
21-40 Packungsjahre	100 / 107	12,80	(6,17-26,55)	23 / 28	12,34	(4,88-31,21)	0,62
41-60 Packungsjahre	85 / 30	48,28	(20,04-116,29)	8 / 7	15,72	(4,53-54,58)	0,17
über 60 Packungsjahre	51 / 9	71,45	(26,42-193,23)	4 / 2	27,74	(4,34-177,25)	0,26
PJ nicht kalkulierbar	44 / 32	4,17	(2,74-6,33)	4 / 6	3,10	(1,48-6,50)	0,32

OR= Odds Ratio

KI=95%-Konfidenzintervall

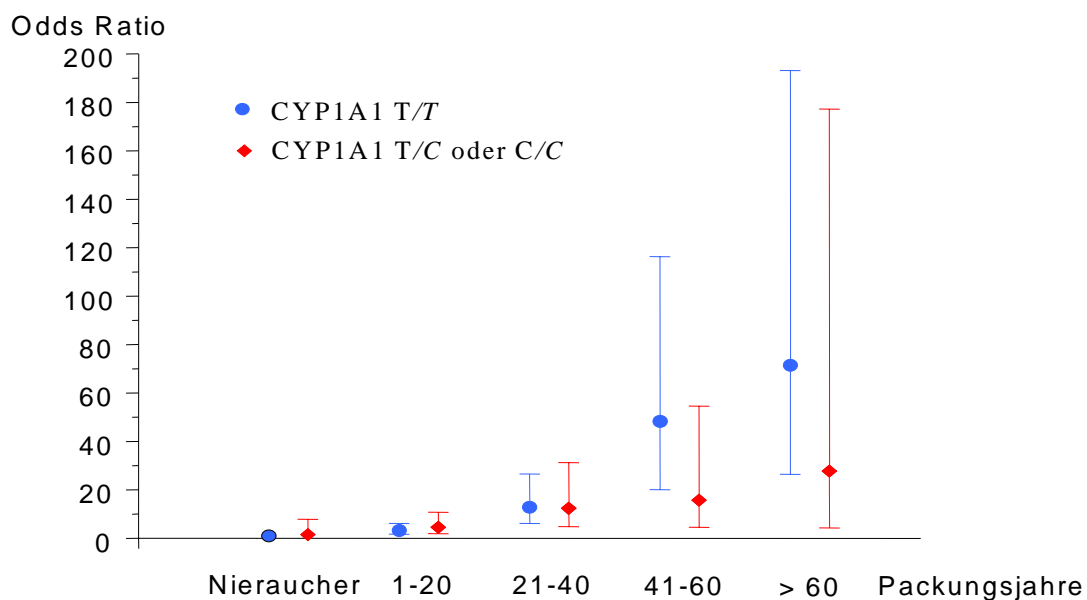


Abbildung 3

Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit vom Rauchkonsum und dem *CYP1A1 T6235C*-Polymorphismus

4.4.2 Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Cytochromoxidase CYP1A1 A4889G in Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum

In Abhängigkeit von der Anzahl der Packungsjahre stieg das beobachtete Erkrankungsrisiko wie erwartet an. Bei dem CYP1A1 A4889G Allel zeigten sich tendenziell die gleichen Ergebnisse wie bei dem CYP1A1 T6235C Allel. Auch hier fanden sich mit steigendem Zigarettenkonsum signifikant ansteigende OR-Werte, wobei ebenso das Risiko bei den Patienten mit homozygotem Wildtyp schneller anstieg als bei den Patienten mit wenigstens einem mutierten Allel. Den höchsten Wert erreichte die OR bei den starken Rauchern mit über 60 Packungsjahren und homozygotem Wildtyp (OR=57,42). Bei Patienten mit wenigstens einem mutierten Allel lag die OR bei OR=33,23 für starke Raucher mit über 60 Packungsjahren. Das im allgemeinen höhere Risiko bei Patienten mit homozygoter Wildtypausprägung unterschied sich jedoch nicht signifikant von dem Risikoanstieg der Patienten mit mindestens einem mutierten Allel.

Es fand sich bei Nierauchern mit wenigstens einem mutanten Allel ein erhöhtes Risiko (OR=2,29), welches statistisch jedoch nicht signifikant war (95%-Konfidenzintervall: 0,27-19,30).

Tabelle 33

Erkrankungsrisiko nach Zigarettenkonsum bei CYP1A1 A4889G -Polymorphismen							
	wt/wt	OR	(KI)	wt/mt; mt/mt	OR	(KI)	p
Nieraucher	17 / 132	1,00		1 / 19	2,29	(0,27-19,30)	0,44
Raucher / Exraucher	363 / 428	9,23	(5,15-16,55)	35 / 41	8,90	(4,17-18,98)	0,97
1-20 Packungsjahre	67 / 226	2,99	(1,59-5,61)	12 / 22	5,52	(2,18-13,95)	0,10
21-40 Packungsjahre	116 / 124	12,27	(6,10-24,66)	7 / 11	6,37	(2,01-20,19)	0,24
41-60 Packungsjahre	86 / 33	35,67	(15,86-80,21)	7 / 4	16,60	(4,06-67,82)	0,21
über 60 Packungsjahre	52 / 10	57,42	(22,43-147,00)	3 / 1	33,23	(3,11-354,99)	0,61
PJ nicht kalkulierbar	42 / 35	3,59	(2,40-5,38)	6 / 3	4,87	(2,26-10,46)	0,34

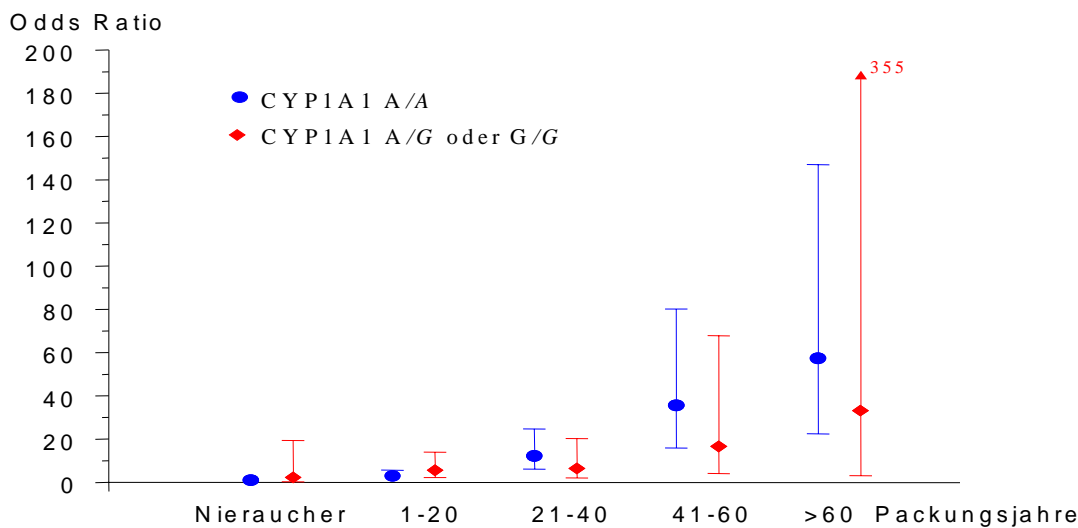


Abbildung 4

Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit vom Rauchkonsum und dem *CYP1A1* A4889G-Polymorphismus.

4.4.3 Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Cytochromoxidase *CYP1B1* in Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum

Auch bei der Untersuchung der Polymorphismen des *CYP1B1*-Gens konnte ein steigendes Risiko an Lungenkrebs zu erkranken bei erhöhter Anzahl der Packungsjahre festgestellt werden. Die Odds Ratio stieg bis auf 418,70 bei Patienten mit wenigstens einer mutierten Variante und mehr als 60 Packungsjahren an. Bei den Personen mit homozygoter Wildtypausprägung erreichte die OR den höchsten Wert von 246,16 (41-60 PJ). Auch hier ließ sich jedoch kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen erhöhtem Risiko und einem bestimmten Genpolymorphismus feststellen.

Tabelle 34

Erkrankungsrisiko nach Zigarettenkonsum bei <i>CYP1B1</i> - Polymorphismen							
	wt/wt	OR	(KI)	wt/mt; mt/mt	OR	(KI)	p
Nieraucher	6 / 62	1		12 / 89	0,71	(0,24-2,09)	0,53
Raucher / Exraucher	134 / 142	15,71	(5,75-42,96)	264 / 327	18,54	(5,99-57,33)	0,31
1-20 Packungsjahre	25 / 74	5,13	(1,74-15,15)	54 / 174	6,78	(2,08-22,11)	0,85
21-40 Packungsjahre	39 / 41	64,86	(8,20-512,75)	84 / 94	52,45	(7,14-385,60)	0,94
41-60 Packungsjahre	39 / 10	246,16	(28,68-2112,53)	54 / 27	299,60	(25,69-3494,42)	0,09
über 60 PJ	16 / 6	166,39	(16,87-1641,26)	39 / 5	418,70	(45,45-3856,89)	0,13
PJ nicht kalkulierbar	15 / 11	9,69	(3,13-30,03)	33 / 27	7,78	(2,80-21,63)	0,77

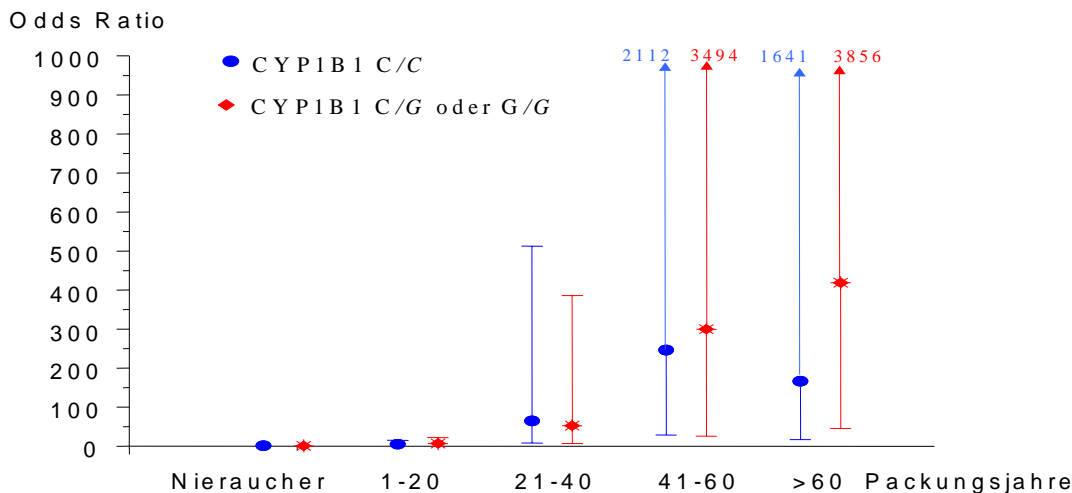


Abbildung 5

Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit vom Rauchkonsum und dem *CYP1B1*-Polymorphismus

4.4.4 Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase *GSTP1* in Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum

Das Risiko an Lungenkrebs zu erkranken stieg sowohl in der Patientengruppe als auch bei den Kontrollpersonen erwartungsgemäß mit der Anzahl der Packungsjahre. Bei den Patienten, die den homozygoten Wildtyp des *GSTP1*-Gens zeigten, stieg das Risiko bis auf OR=51,97 für starke Raucher mit mehr als 60 Packungsjahren. In der Gruppe mit wenigstens einem mutierten Gen betrug der Odds Ratio-Wert bei dieser Rauchergruppe OR=50,56 (siehe Tabelle 35).

Statistisch signifikante Unterschiede im Risikoanstieg zwischen der Gruppe mit mindestens einem mutierten Allel und derjenigen mit zwei Wildtypallelen traten ausschließlich bei den mittelstarken Raucher (PJ: 21-40) auf (p-Wert 0,03). Dieses Ergebnis ließ sich jedoch nicht ohne weiteres in die übrigen Risikostratifizierungen einordnen.

Tabelle 35

Erkrankungsrisiko nach Zigarettenkonsum <i>GSTP1</i> - Polymorphismen							
	wt/wt	OR	(KI)	wt/mt; mt/mt	OR	(KI)	p
Nieraucher	13 / 81	1,00		5 / 70	0,38	(0,12-1,19)	0,21
Raucher / Exr.	178 / 217	8,57	(4,10-17,90)	220 / 252	7,09	(3,60-13,94)	0,47
1-20 PJ	37 / 107	3,13	(1,41-6,96)	42 / 141	2,29	(1,09-4,80)	0,66
21-40 PJ	52 / 76	7,87	(3,32-18,68)	71 / 59	13,16	(5,57-31,11)	0,03
41-60 PJ	42 / 14	36,89	(12,64-107,70)	51 / 23	29,21	(10,73-79,51)	0,57
über 60 PJ	23 / 5	51,97	(14,48-186,53)	32 / 6	50,56	(15,52-164,79)	0,91
PJ nicht kalk.	24 / 15	4,12	(2,42-6,98)	24 / 23	3,26	(1,98-5,36)	0,45

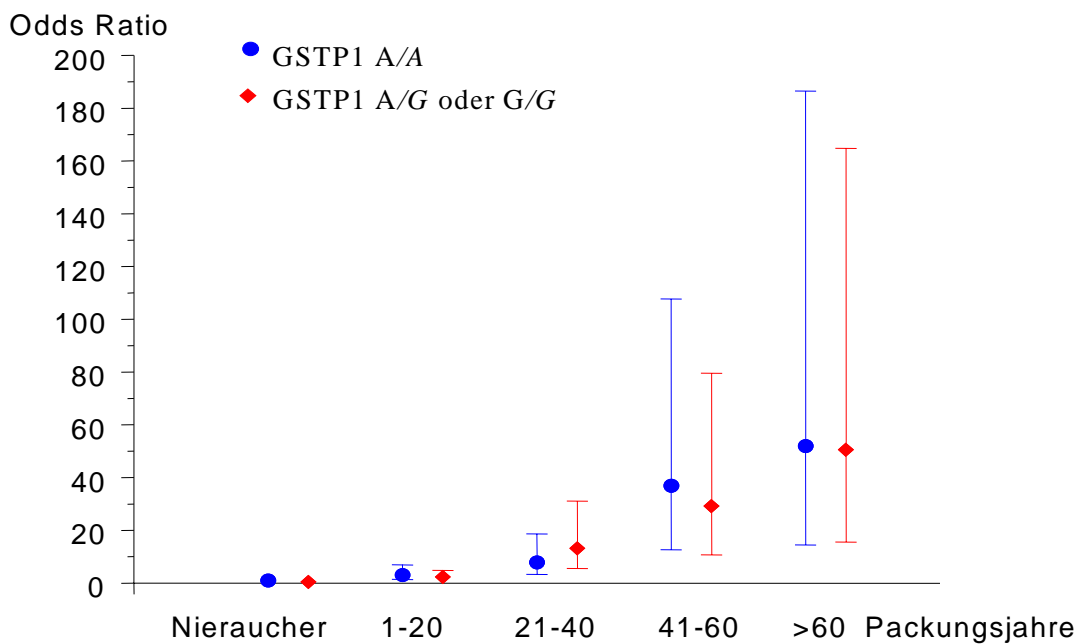


Abbildung 6

Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit vom Rauchkonsum und dem *GSTP1*-Polymorphismus

4.4.5 Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase *GSTM1* in Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum

Bei der Untersuchung der Polymorphismen des *GSTM1*-Gens konnte ebenso ein steigendes Risiko an Lungenkrebs zu erkranken, bei erhöhter Anzahl der Packungsjahre, festgestellt

werden. Wie aus der Tabelle 36 zu entnehmen ist, stieg die Odds Ratio bis auf OR=138,22 bei Patienten mit der aktiven Gen-Variante und 41-60 Packungsjahren an. Bei den Personen mit Gendeletion erreichte die OR=112,08 bei starken Rauchern mit über 60 Packungsjahren als kumulative Dosis. Auch hier ließ sich bei deutlich erhöhten Risiken durch das starke Rauchen jedoch kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen erhöhtem Risiko und einer bestimmten Genvariante feststellen.

Tabelle 36

Erkrankungsrisiko nach Zigarettenkonsum bei <i>GSTM1</i> –Polymorphismen							
	positiv	OR	(KI)	negativ	OR	(KI)	p
Nieraucher	7 / 74	1,00		11 / 77	1,59	(0,55-4,57)	0,57
Raucher / Exraucher	191 / 253	16,97	(6,21-46,04)	207 / 216	13,24	(5,54-31,66)	0,17
1-20 Packungsjahre	33 / 136	4,51	(1,59-12,75)	46 / 112	5,26	(2,10-13,16)	0,06
21-40 Packungsjahre	56 / 74	20,77	(6,00-71,93)	67 / 61	26,91	(7,97-90,85)	0,17
41-60 Packungsjahre	49 / 16	138,22	(27,89-684,90)	44 / 21	59,29	(14,70-239,11)	0,44
über 60 PJ	32 / 6	121,66	(26,20-564,92)	23 / 5	112,08	(23,02-545,71)	0,91
PJ nicht kalkulierbar	21 / 21	4,81	(2,41-9,6)	27 / 17	6,03	(3,05-11,93)	0,40

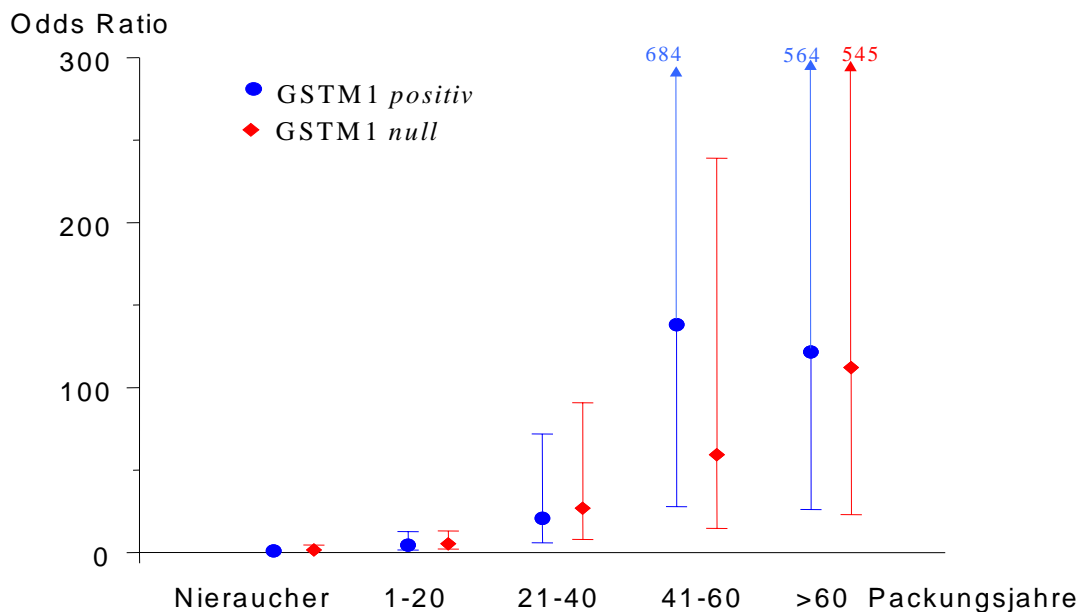


Abbildung 7

Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit vom Rauchkonsum und dem *GSTM1*-Polymorphismus

4.4.6 Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase *GSTT1* in

Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum

Bei dem *GSTT1*-Allel zeigten sich tendenziell die gleichen Ergebnisse wie bei den anderen untersuchten Genen. Auch hier fanden sich mit steigendem Zigarettenkonsum signifikant ansteigende OR-Werte, was in Tabelle 37 dargestellt ist.

Das Risiko stieg bei den Patienten mit aktivem Gen auf OR=65,01 (Raucher mit mehr als 60 Packungsjahren) und bei vorhandener Gendeletion auf OR=158,49 (Raucher mit mehr als 60 Packungsjahren) an. Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied im Risikoanstieg zwischen der Gruppe mit aktivem Gen und derjenigen mit Gendeletion.

Tabelle 37

Erkrankungsrisiko nach Zigarettenkonsum bei <i>GSTT1</i> - Polymorphismen							
	positiv	OR	(KI)	negativ	OR	(KI)	p
Nieraucher	15 / 125	1,00		3 / 26	1,50	(0,37-6,08)	0,79
Raucher / Exr.	330 / 380	13,53	(6,90-26,55)	68 / 89	8,83	(4,29-18,19)	0,34
1-20 PJ	65 / 197	4,30	(2,12-8,73)	14 / 51	3,12	(1,29-7,57)	0,70
21-40 PJ	104 / 112	15,64	(6,98-35,04)	19 / 23	14,10	(5,12-38,85)	0,86
41-60 PJ	79 / 28	49,61	(19,9-123,65)	14 / 9	23,13	(7,26-73,68)	0,32
über 60 PJ	44 / 10	65,01	(23,23-181,88)	11 / 1	158,49	(17,75-1415,06)	0,67
PJ nicht kalk.	38 / 33	4,13	(2,63-6,48)	10 / 5	5,40	(2,76-10,58)	0,52

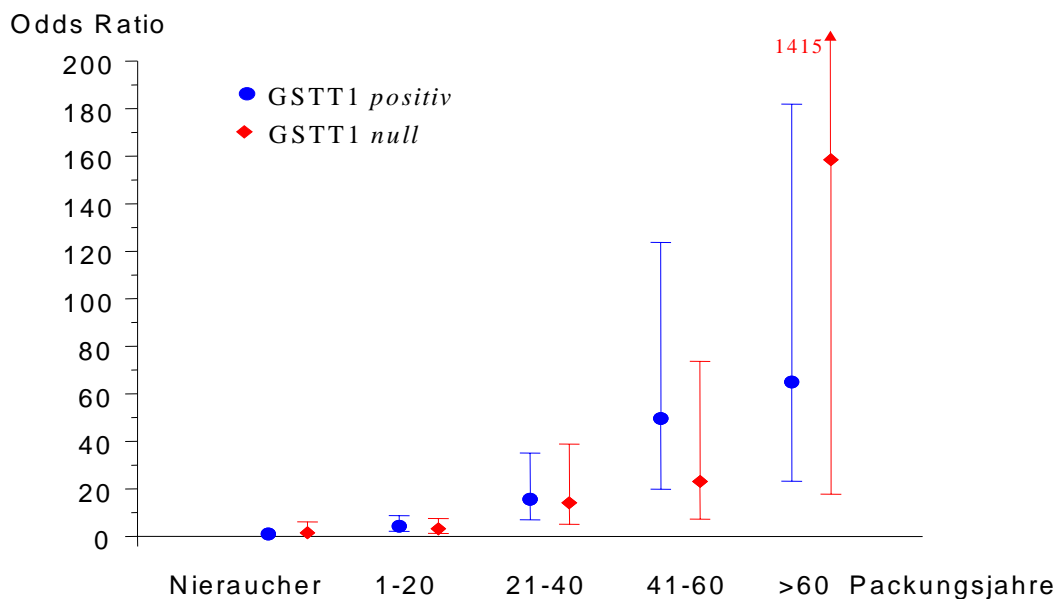


Abbildung 8

Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit vom Rauchkonsum und dem *GSTT1*-Polymorphismus

4.5 Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von kanzerogener Gefahrstoffeinwirkung am Arbeitsplatz

Aus arbeitsmedizinischer Sicht stellen die krebserzeugenden Arbeitsstoffe Quarz und Asbest die wichtigsten Risikofaktoren für die Entstehung von Lungenkrebs dar. Ein weiterer Risikofaktor ist die ionisierende α -Strahlung durch Radon und dessen Folgeprodukte bei ehemaligen Arbeitern im Uranbergbau. Um einen möglichen modifizierenden Effekt und Einfluss der Polymorphismen auf das Krankheitsgeschehen zu untersuchen, wurden Patienten mit bestehenden Berufskrankheiten analysiert. Dabei wurde insbesondere das Risiko nach Einwirkung bekanntermaßen Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe untersucht. Es handelt sich um Beschäftigte nach Einwirkung von Asbest, Quarz und ionisierenden Strahlen. Es handelt sich insbesondere um n=39 Lungenkrebspatienten mit der BK-Nr. 4104 BKV (Lungenkrebs in Verbindung mit Asbeststaublungenerkrankung, mit durch Asbestfaserstaub verursachter Erkrankung der Pleura oder einer Einwirkung einer kumulativen Asbestfaserstaubdosis am Arbeitsplatz von mindestens 25 Faserjahren), n=7 Lungenkrebspatienten der BK-Nr. 4112 BKV (Lungenkrebs durch die Einwirkung von kristallinem Siliziumdioxid bei nachgewiesener Quarzstaublungenerkrankung) und n=40

Lungenkrebspatienten mit einer BK der Nr. 2402 BKV (Erkrankungen durch ionisierende Strahlen). Ebenso wurde das Risiko analysiert bei Patienten nach Einwirkung kanzerogener Gefahrstoffe ohne bisheriges Auftreten einer Lungenkrebserkrankung. Es handelt sich um n=181 Patienten mit einer BK der Nr. 4103 BKV (Asbeststaublungerkrankung oder durch Asbeststaub verursachte Erkrankung der Pleura) und n=144 Patienten mit der BK-Nr. 4101 (Quarzstaublungerkrankung). Um Personen ohne Lungenkrebserkrankung mit relevanter Einwirkung gegenüber ionisierender Strahlen zu definieren, wurde als Kriterium die Beschäftigung im Uranerzbergbau (Wismut) bei gleichzeitigem Vorliegen einer anerkannten Berufskrankheit der Nr. 4101 herangezogen (n=60). Zusätzlich wurden Patienten mit Pleuramesotheliom durch Asbesteinwirkung (Nr. 4105 BKV) untersucht. Das geschätzte Risiko (Odds Ratio) wurde jeweils auf gesunde Kontroll-Personen ohne relevante Einwirkung kanzerogener Arbeitsstoffe bezogen. Für die Cytochromoxidasen wird das Risiko für den Wildtyp (wt/wt), für die Glutathion-S-Transferasen das Risiko für mindestens ein mutiertes Allel (wt/mt oder mt/mt) dargestellt. Stets erfolgte eine Adjustierung nach Alter, Geschlecht und dem Rauchverhalten in Packungsjahren.

4.5.1 Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Cytochromoxidase CYP1A1 T6235C bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz

Für den Polymorphismus des *CYP1A1 T6235C*-Gens befand sich das geschätzte Risiko für die verschiedenen Berufskrankheiten zwischen OR=0,50 (BK-Nr. 2402) und OR=1,26 (BK-Nr. 4101, Wismut). In den Gruppen von Patienten mit Lungenkrebserkrankung (BK-Nr. 4104, 4112, 2402) errechnete sich ein verringertes Risiko für die Patienten mit strahlenbedingtem Bronchialkarzinom (OR=0,50), sowie bei Patienten mit asbestverursachten Krebserkrankung (OR=0,70). Auf Grund der geringen Fallzahl (n=7) der BK-Nr. 4112 fand sich keine Person mit einem mutierten Allel, so dass eine Risikoschätzung in diesem Fall nicht möglich war. Bei den Personen, die nicht an Lungenkrebs erkrankt waren (BK-Nr. 4103, 4101) zeigten sich Odds - Ratio Werte von OR=0,96 bei Patienten mit Asbestose, OR=1,15 bei Silikosepatienten und OR=1,26 bei Personen mit Silikose und Einwirkung ionisierender Strahlen im Uranbergbau. In keinem der Fälle war das geschätzte Risiko signifikant erhöht oder erniedrigt (siehe Tabelle 38). Die durchgehend höheren Risikowerte bei den Personen ohne

Krebserkrankung im Vergleich zu denjenigen mit Lungenkrebs waren statistisch nicht signifikant ($p=0,84$).

Tabelle 38

Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Cytochromoxidase *CYP1A1 T6235C* bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz

<i>CYP1A1 T6235C</i> – Polymorphismen				
	wt/wt	wt/mt; mt/mt	OR ¹	95%-Konfidenzintervall
Gesunde	151	33		
BK 4103	147	34	0,96	0,54-1,72
BK 4104	31	8	0,70	0,27-1,81
BK 4101	122	22	1,15	0,57-2,31
BK 4112	7	0	nicht definiert	
BK 4101, Wismut	52	8	1,26	0,39-4,05
BK 2402	32	8	0,50	0,18-1,36
BK 4105	16	3	1,12	0,30-4,14

¹ *adjustiert nach Alter, Geschlecht und Packungsjahren*

BK 4103: Asbestose;

BK 4104 Asbestlungenkrebs,

BK 4101: Silikose;

BK: 4112 Lungenkrebs bei Quarzstaublungerkrankung

BK 4101, Wismut: Silikose bei Wismutarbeitern; BK 2404: Schneeberger Lungenkrebs

4.5.1.1 BK 4105: Pleuramesotheliom

4.5.1.2 N= Nieraucher; E/R= Ex-/Raucher

Das Lungenkrebsrisiko ist in besonderem Maße vom Rauchverhalten abhängig. Daher sollte in einer weiteren Analyse zwischen Nierauchern und Personen, die rauchen oder jemals geraucht haben, unterschieden werden. Um synergistische Effekte des Rauchens und der Einwirkung von Kanzerogenen am Arbeitsplatz in Abhängigkeit von den Genpolymorphismen zu erkennen, sollten die Lungenkrebspatienten differenziert nach ihrem Rauchverhalten betrachtet werden. Auf Grund der niedrigen Fallzahl der Nieraucher mit anerkannter BK-Nr. 4104, 4112, 2402, bei denen mindestens ein mutiertes Allel (wt/mt; mt/mt) vorlag, konnten jedoch keine Risikoschätzungen durchgeführt werden (s. Tabellen).

Bei der Unterteilung der Erkrankungsgruppen nach dem Rauchverhalten in Nieraucher beziehungsweise Ex-/Raucher fanden sich für den Polymorphismus des *CYP1A1 T6235C*-Gens die in Tabelle 39. dargelegten Ergebnisse. Die Odds Ratios der Nieraucher bewegten sich in Abhängigkeit von den anerkannten Berufskrankheiten zwischen OR=0,40 (BK 4101,

Wismut) und OR=1,6 (BK 4101). Bei den Rauchern bzw. Exrauchern befand sich das ermittelte Risiko zwischen OR=0,84 (BK 4104) und OR=2,23 (BK 4105). Signifikante Unterschiede kamen nicht vor.

Tabelle 39

Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Cytochromoxidase *CYP1A1 T6235C* bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz differenziert nach dem Rauchverhalten

<i>CYP1A1 T6235C</i> – Polymorphismen				
	wt/wt	wt/mt; mt/mt	OR ¹	95%-Konfidenzintervall
Gesunde N	40	10		
Gesunde E/R	111	23	1,17	0,51-2,69
BK 4103 N	28	6	0,99	0,29-3,37
BK 4103 E/R	119	28	0,93	0,39-2,22
BK 4104 N	1	0	nicht definiert	
BK 4104 E/R	30	8	0,84	0,29-2,45
BK 4101 N	23	4	1,60	0,35-7,23
BK 4101 E/R	99	18	1,48	0,55-4,01
BK 4112 N	1	0	nicht definiert	
BK 4112 E/R	6	0	nicht definiert	
BK 4101, Wismut N	5	2	0,40	0,05-3,16
BK 4101, Wismut E/R	47	6	2,01	0,42-9,52
BK 2402 N	0	0	nicht definiert	
BK 2402 E/R	32	8	1,06	0,34-3,31
BK 4105 N	6	2	0,70	0,12-4,10
BK 4105 E/R	10	1	2,23	0,25-19,87

¹adjustiert nach Alter und Geschlecht

Legende: siehe Tabelle 38

4.5.2 Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Cytochromoxidase CYP1A1 A4889G bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz

Die Risikoverteilung lag für den Polymorphismus des *CYP1A1 A4889G*-Gens in den verschiedenen Berufskrankheitengruppen zwischen $OR=0,51$ (BK-Nr. 4104) und $OR=0,89$ (BK-Nr. 4101, Wismut).

Bei den Patienten mit Lungenkrebs-erkrankungen (BK-Nr. 4104, 4112, 2402) fand sich ein geringeres Risiko bei denjenigen mit asbestverursachtem Bronchialkarzinom ($OR=0,51$), als bei Patienten mit Krebs-erkrankung nach Einwirkung ionisierender Strahlen ($OR=0,87$). Wie schon bei den *CYP1A1 T6235C*-Polymorphismen konnte auf Grund der geringen Fallzahl ($n=7$) der BK-Nr. 4112 (Lungenkrebs in Verbindung mit Quarzstaublungenerkrankung) für diese Gruppe keine Risikoschätzung durchgeführt werden (s. Tabelle 40).

Die Odds Ratio Werte für die Personen, die nicht an Lungenkrebs erkrankt waren (BK-Nr. 4103, 4101), lagen mit einer $OR=0,63$ bei Patienten mit Silikose, $OR=0,81$ bei Asbestosepatienten und $OR=0,89$ bei Personen mit Silikose und Einwirkung ionisierender Strahlen im Uranbergbau.

Keine der aufgeführten Risikoermittlungen (Odds Ratio) unterschied sich signifikant zur Referenzgruppe (Gesunde ohne kanzerogene Einwirkung am Arbeitsplatz).

Tabelle 40

Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Cytochromoxidase *CYP1A1 A4889G* bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz

<i>CYP1A1 A4889G</i> – Polymorphismen				
	wt/wt	wt/mt; mt/mt	OR ¹	95%-Konfidenzintervall
Gesunde ohne kBk	170	14		
BK 4103	166	15	0,81	0,36-1,83
BK 4104	33	6	0,51	0,14-1,83
BK 4101	130	14	0,63	0,24-1,65
BK 4112	7	0	nicht definiert	
BK 4101, Wismut	56	4	0,89	0,20-4,09
BK 2402	37	3	0,87	0,16-4,66
BK 4105	15	4	0,39	0,10-1,54

¹ *adjustiert nach Alter, Geschlecht und Packungsjahren*

Legende: siehe Tabelle 38

Bei der zusätzlichen Unterteilung der Erkrankungsgruppen nach dem Rauchverhalten in Nieraucher beziehungsweise Ex-/Raucher fanden sich folgende Ergebnisse: Das geschätzte Risiko betrug bei den Nierauchern in Abhängigkeit der Berufskrankheit zwischen OR=0,76 (BK 4101, Wismut) und OR=1,47 (BK 4103). Bei den Rauchern bzw. Exrauchern lag das ermittelte Risiko zwischen OR=1,21 (BK 4104) und OR=2,21 (BK 4101, Wismut). Diese Werte waren allesamt nicht signifikant (s. Tabelle 41). Eine signifikante Erhöhung (OR=4,94; 95%-Konfidenzintervall: 1,52-15,95) zeigte sich allerdings für den Wildtyp bei den gesunden Rauchern im Vergleich zu den gesunden Nierauchern. Dieser Befund ließ sich jedoch bei den Untersuchungen zwischen Rauchern bzw. Ex-Rauchern und Nierauchern bei den einzelnen Berufskrankheiten nicht nachvollziehen. Lediglich bei den Rauchern bzw. Ex-Rauchern unter den Wismutbergleuten mit anerkannter Silikose fand sich auch eine erhöhte OR=2,21. Diese vom Zigarettenkonsum abhängigen Risikosteigerungen zeigten sich in den vorherigen Auswertungen nicht. Als Ursache könnte ein in der Höhe der Zigarettenkonsum unterschiedlicher Rauchkonsum in den Gruppen angesehen werden. In dieser Analyse war eine Adjustierung auf Packungsjahre nicht möglich.

Tabelle 41

Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Cytochromoxidase *CYP1A1 A4889G* bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz differenziert nach dem Rauchverhalten

<i>CYP1A1 A4889G</i> – Polymorphismen				
	wt/wt	wt/mt; mt/mt	OR ¹	95%-Konfidenzintervall
Gesunde N	42	8		
Gesunde E/R	128	6	4,94	1,53-15,95
BK 4103 N	31	3	1,47	0,35-6,17
BK 4103 E/R	135	12	1,73	0,64-4,67
BK 4104 N	0	1	nicht definiert	
BK 4104 E/R	33	5	1,21	0,36-4,07
BK 4101 N	23	4	0,87	0,20-3,82
BK 4101 E/R	107	10	1,55	0,48-4,99
BK 4112 N	1	0	nicht definiert	
BK 4112 E/R	6	0	nicht definiert	
BK 4101, Wismut N	6	1	0,76	0,06-9,45
BK 4101, Wismut E/R	50	3	2,21	0,36-13,60
BK 2402 N	0	0	nicht definiert	
BK 2402 E/R	37	3	2,10	0,49-8,98
BK 4105 N	7	1	1,23	0,13-11,65
BK 4105 E/R	8	3	0,45	0,09-2,16

¹ *adjustiert nach Alter und Geschlecht*

Legende: siehe Tabelle 38:

4.5.3 Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Cytochromoxidase CYP1B1 bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz

Bei den Untersuchungen zu den Polymorphismen des *CYP1B*-Gens lagen die Odds Ratio's in Abhängigkeit der anerkannten Berufskrankheit zwischen OR=0,56 (BK-Nr. 2402) und OR=1,52 (BK-Nr. 4104). Für die Patienten mit quarzstaubverursachtem Bronchialkarzinom (BK-Nr. 4112) lag das geschätzte Risiko bei OR=0,89. Die Werte der Personen ohne

Lungenkrebserkrankung lagen dazwischen mit OR=1,06 (BK-Nr. 4103), OR=1,20 (BK-Nr. 4101, Wismut) und OR=1,25 (BK-Nr. 4101).

Die aufgeführten Risiken waren im Vergleich zu der Referenzgruppe (Gesunde ohne kanzerogene Einwirkung am Arbeitsplatz) nicht signifikant verändert (s. Tabelle 42).

Tabelle 42

Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Cytochromoxidase *CYP1B1* bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz

<i>CYP1B1</i> – Polymorphismen				
	wt/wt	wt/mt; mt/mt	OR ¹	95%-Konfidenzintervall
Gesunde	57	127		
BK 4103	58	123	1,06	0,65-1,73
BK 4104	14	25	1,52	0,68-3,39
BK 4101	50	94	1,25	0,71-2,19
BK 4112	2	5	0,89	0,16-4,78
BK 4101, Wismut	26	34	1,20	0,53-2,71
BK 2402	10	30	0,56	0,20-1,55
BK 4105	4	15	0,63	0,20-2,03

¹ *adjustiert nach Alter, PJ und Geschlecht*

Legende: siehe Tabelle 38

Die Unterteilung der Erkrankungsgruppen nach dem Rauchverhalten lieferte für die Nieraucher geschätzte Risikowerte im Bereich von OR=0,76 (BK-Nr. 4105) bis OR=2,49 (BK-Nr. 4101). Das entsprechende Risiko betrug bei den Rauchern und Exrauchern je nach Berufskrankheit zwischen OR=0,52 (BK 4105) und OR=1,97 (BK 4101, Wismut). Statistisch signifikante Unterschiede traten hierbei nicht auf (s. Tabelle 43).

Tabelle 43

Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Cytochromoxidase *CYP1B1* bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz differenziert nach dem Rauchverhalten

<i>CYP1B1</i> – Polymorphismen				
	wt/wt	wt/mt; mt/mt	OR ¹	95%-Konfidenzintervall
Gesunde N	16	34		
Gesunde E/R	41	93	0,94	0,47-1,89
BK 4103 N	16	18	2,15	0,79-5,80
BK 4103 E/R	42	105	0,91	0,44-1,91
BK 4104 N	1	0	nicht definiert	
BK 4104 E/R	13	25	1,14	0,46-2,81
BK 4101 N	12	15	2,49	0,79-7,88
BK 4101 E/R	38	79	1,17	0,51-2,66
BK 4112 N	0	1	nicht definiert	
BK 4112 E/R	2	4	1,17	0,19-7,25
BK 4101, Wismut N	2	5	1,29	0,17-9,63
BK 4101, Wismut E/R	24	29	1,97	0,64-6,08
BK 2402 N	0	0	nicht definiert	
BK 2402 E/R	10	30	0,82	0,30-2,24
BK 4105 N	2	6	0,76	0,14-4,28
BK 4105 E/R	2	9	0,52	0,10-2,75

¹ *adjustiert nach Alter und Geschlecht*

Legende: siehe Tabelle 38

4.5.4 Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase GSTP1 bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz

Nach der Aufteilung der untersuchten Personen in Gruppen je nach vorliegender Berufskrankheit konnten für den *GSTP1*-Polymorphismus die in Tabelle 44 aufgeführten Risikowerte geschätzt werden. Die Odds Ratio's für Patienten mit mindestens einem mutierten Allel (wt/mt; mt/mt) lagen zwischen OR=0,54 (BK-Nr. 4105) und OR=1,40 (BK-

Nr. 4101). Für die Patienten mit Bronchialkarzinom (BK-Nr. 4104, 4112, 2402) betrug das niedrigste geschätzte Risiko OR=0,70 (BK 4104), Patienten mit der BK-Nr. 4112 zeigten eine Odds Ratio von OR=0,78. Bei Lungenkrebspatienten der BK-Nr. 2402 lag das Risiko nahe 1,0 (OR= 1,05). Die Werte der Personen ohne Lungenkrebserkrankung lagen bei OR=0,97 (BK-Nr. 4103), OR=1,18 (BK-Nr. 4101, Wismut) und OR=1,40 (BK-Nr. 4101). Im Vergleich zu der Referenzgruppe (Gesunde ohne kanzerogene Einwirkung am Arbeitsplatz) waren die aufgeführten Odds Ratio's nicht signifikant unterschiedlich (s. Tabelle 44).

Tabelle 44

Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase *GSTP1* bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz

<i>GSTP1</i> – Polymorphismen				
	wt/wt	wt/mt; mt/mt	OR ¹	95%-Konfidenzintervall
Gesunde	92	92		
BK 4103	94	87	0,97	0,62-1,52
BK 4104	22	17	0,70	0,32-1,53
BK 4101	65	79	1,40	0,83-2,39
BK 4112	4	3	0,78	0,17-3,66
BK 4101, Wismut	32	28	1,18	0,54-2,59
BK 2402	17	23	1,05	0,44-2,51
BK 4105	13	6	0,54	0,19-1,52

¹ *adjustiert nach Alter, PJ und Geschlecht*
Legende: siehe Tabelle 38

Die errechneten Risikowerte für die verschiedenen Erkrankungsgruppen nach Unterteilung an Hand des Rauchverhaltens zeigt Tabelle 45. Für die Nieraucher mit mindestens einem mutierten Allel lagen die Werte im Bereich von OR=0,29 (BK-Nr. 4101, Wismut) bis OR=1,59 (BK-Nr. 4101). Bei den Rauchern und Exrauchern betrug das entsprechende Risiko je nach Berufskrankheit zwischen OR=0,39 (BK 4105) und OR=1,77 (BK 2402). Die Unterschiede waren statistisch nicht signifikant (s. Tabelle 45).

Tabelle 45

Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase *GSTP1* bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz differenziert nach dem Rauchverhalten

<i>GSTP1</i> – Polymorphismen				
	wt/wt	wt/mt; mt/mt	OR ¹	95%-Konfidenzintervall
Gesunde N	27	23		
Gesunde E/R	65	69	1,22	0,64-2,35
BK 4103 N	24	10	0,45	0,16-1,25
BK 4103 E/R	70	77	1,26	0,64-2,48
BK 4104 N	1	0	nicht definiert	
BK 4104 E/R	21	17	0,86	0,36-2,04
BK 4101 N	11	16	1,59	0,52-4,82
BK 4101 E/R	54	63	1,38	0,64-2,97
BK 4112 N	1	0	nicht definiert	
BK 4112 E/R	3	3	1,07	0,19-5,96
BK 4101, Wismut N	5	2	0,29	0,03-2,67
BK 4101, Wismut E/R	27	26	1,31	0,45-3,87
BK 2402 N	0	0	nicht definiert	
BK 2402 E/R	17	23	1,77	0,70-4,44
BK 4105 N	5	3	0,65	0,14-3,08
BK 4105 E/R	8	3	0,39	0,09-1,70

¹ *adjustiert nach Alter und Geschlecht*

Legende: siehe Tabelle 38

*4.5.5 Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase *GSTM1* bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz*

Das an Hand der Odds Ratio geschätzte Risiko für den Polymorphismus des *GSTM1*-Gens bei Personen mit verschiedenen anerkannten Berufskrankheiten im Vergleich zu der gesunden Referenzgruppe kann Tabelle 46 entnommen werden. Die Odds Ratio Werte für Patienten mit Nachweis des Genotyps lagen zwischen OR=1,14 (BK-Nr. 4103) und OR=2,37 (BK-Nr. 4105). Für die Patienten mit Bronchialkarzinom (BK-Nr. 4104, 4112, 2402) betrug das

geschätzte Risiko OR=1,29 (BK-Nr. 4104). Die höchste OR=1,70 trat bei Lungenkrebs-Patienten der BK-Nr. 4112 auf. Der Risikowert für Patienten mit strahlenbedingter Lungenkrebs-erkrankung (BK-Nr. 2402) lag bei OR=1,37.

Die aufgeführten Odds Ratio Werte waren im Vergleich zur Referenzgruppe (Gesunde ohne kanzerogene Einwirkung am Arbeitsplatz) nicht signifikant erhöht (s. Tabelle 46).

Tabelle 46

Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase *GSTM1* bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz

<i>GSTM1</i> – Polymorphismen				
	positiv	negativ	OR ¹	95%-Konfidenzintervall
Gesunde	99	85		
BK 4103	94	87	1,14	0,72-1,78
BK 4104	19	20	1,29	0,60-2,80
BK 4101	79	65	1,17	0,69-1,99
BK 4112	3	4	1,70	0,36-7,92
BK 4101, Wismut	30	30	2,06	0,91-4,68
BK 2402	18	22	1,37	0,58-3,22
BK 4105	6	13	2,37	0,84-6,65

¹ *adjustiert nach Alter, PJ und Geschlecht*
Legende: siehe Tabelle 38

Nach Unterteilung der einzelnen Erkrankungsgruppen nach ihrem Rauchverhalten konnten für die *GSTM1*-Genotypausprägungen die in Tabelle 47 dargestellten Ergebnisse beschrieben werden. Für Nieraucher mit aktivem Allel lagen die Werte im Bereich von OR=1,45 (BK-Nr. 4101) bis OR=2,14 (BK-Nr. 4101, Wismut). Bei den Rauchern und Exrauchern betrug das entsprechende Risiko in Abhängigkeit von der aufgetretenen Berufskrankheit zwischen OR=0,80 (BK 4101) und OR=1,36 (BK 2402). Diese Ergebnisse waren allesamt statistisch nicht signifikant.

Tabelle 47

Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase *GSTM1* bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz differenziert nach dem Rauchverhalten

<i>GSTM1</i> – Polymorphismen				
	positiv	negativ	OR ¹	95%-Konfidenzintervall
Gesunde N	28	22		
Gesunde E/R	71	63	1,18	0,61-2,27
BK 4103 N	14	20	1,97	0,75-5,20
BK 4103 E/R	80	67	1,00	0,51-1,98
BK 4104 N	0	1	nicht definiert	
BK 4104 E/R	19	19	1,28	0,54-3,01
BK 4101 N	12	15	1,45	0,48-4,35
BK 4101 E/R	67	50	0,80	0,37-1,74
BK 4112 N	0	1	nicht definiert	
BK 4112 E/R	3	3	1,18	0,21-6,59
BK 4101, Wismut N	2	5	2,14	0,31-14,89
BK 4101, Wismut E/R	28	25	1,14	0,39-3,34
BK 2402 N	0	0	nicht definiert	
BK 2402 E/R	18	22	1,36	0,55-3,34
BK 4105 N	0	8	nicht definiert	
BK 4105 E/R	6	5	1,01	0,27-3,82

¹ *adjustiert nach Alter und Geschlecht*

Legende: siehe Tabelle 38

*4.5.6 Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase *GSTT1* bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz*

Für den Polymorphismus des *GSTT1*-Gens befand sich das geschätzte Risiko bei positivem Allel für die verschiedenen Berufskrankheiten zwischen OR=0,47 (BK-Nr. 4104) und OR=1,85 (BK-Nr. 2402). Bei den Patienten mit durch Quarzstaub verursachter Lungenkrebserkrankungen (BK-Nr. 4112) konnte das Risiko nicht errechnet werden, da keine Personen mit dem *GSTT1*-Null-Allel auftraten (s. Tabelle 48). Bei den Personen, die nicht an

Lungenkrebs erkrankt waren (BK-Nr. 4103, 4101) zeigten sich Odds Ratios von OR=0,68 bei Patienten mit Asbestose, OR=0,88 bei Silikosepatienten und OR=0,93 bei Personen mit Silikose und Einwirkung ionisierender Strahlen im Uranbergbau.

In keinem der Fälle war das geschätzte Risiko signifikant unterschiedlich im Vergleich zur Referenzgruppe.

Tabelle 48

Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase *GSTT1* bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz

<i>GSTT1</i> – Polymorphismen				
	positiv	negativ	OR ¹	95%-Konfidenzintervall
Gesunde	144	40		
BK 4103	153	28	0,68	0,38-1,22
BK 4104	35	4	0,47	0,15-1,51
BK 4101	120	24	0,88	0,45-1,72
BK 4112	7	0	nicht definiert	
BK 4101, Wismut	47	13	0,93	0,35-2,47
BK 2402	29	11	1,85	0,72-4,77
BK 4105	16	3	0,79	0,22-2,90

¹ *adjustiert nach Alter, PJ und Geschlecht*
Legende: siehe Tabelle 38

Infolge der Unterteilung der Erkrankungsgruppen nach dem Rauchverhalten in Nieraucher beziehungsweise Ex-/Raucher fanden sich für den Polymorphismus des *GSTT1*-Gens die in Tabelle 49 dargelegten Ergebnisse. Die Odds Ratios der Nieraucher mit aktivem Gen bewegten sich in Abhängigkeit von den anerkannten Berufskrankheiten zwischen OR=0,46 (BK 4103) und OR=2,12 (BK 4101, Wismut). Bei den Rauchern bzw. Exrauchern befand sich das ermittelte Risiko zwischen OR=0,42 (BK 4104) und OR=1,51 (BK 2402).

Die Ergebnisse waren nicht statistisch signifikant.

Tabelle 49

Erkrankungs- und Lungenkrebsrisiko in Abhängigkeit von Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase *GSTT1* bei verschiedenen Berufskrankheiten nach Einwirkung Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe am Arbeitsplatz differenziert nach dem Rauchverhalten

<i>GSTT1</i> – Polymorphismen				
	positiv	negativ	OR ¹	95%-Konfidenzintervall
Gesunde N	38	12		
Gesunde E/R	106	28	0,81	0,37-1,76
BK 4103 N	31	3	0,46	0,12-1,88
BK 4103 E/R	122	25	0,68	0,30-1,55
BK 4104 N	1	0	nicht definiert	
BK 4104 E/R	34	4	0,42	0,12-1,47
BK 4101 N	21	6	1,84	0,48-7,10
BK 4101 E/R	99	18	0,78	0,29-2,07
BK 4112 N	1	0	nicht definiert	
BK 4112 E/R	6	0	nicht definiert	
BK 4101, Wismut N	5	2	2,12	0,24-18,54
BK 4101, Wismut E/R	42	11	1,18	0,29-4,89
BK 2402 N	0	0	nicht definiert	
BK 2402 E/R	29	11	1,51	0,53-4,33
BK 4105 N	7	1	0,54	0,06-5,02
BK 4105 E/R	9	2	0,81	0,15-4,43

4.5.7 Zusammenfassende Beurteilung

Ein modifizierender Effekt der Polymorphismen *CYP1A1*, *CYP1B1*, *GSTM1*, *GSTP1* und *GSTT1* hinsichtlich des Erkrankungs- und Lungenkrebs-Risikos nach Einwirkung bekanntermaßen Lungenkrebs erzeugender Gefahrstoffe konnte nicht abgeleitet werden. Dies gilt auch bei Berücksichtigung des Rauchverhaltens. Synergistische Effekte von humankanzerogenen Arbeitsstoffen und Zigarettenkonsum ließen sich bei den untersuchten Polymorphismen nicht sicher ableiten.

5 Diskussion

Der prognostizierte Anstieg an Lungenkrebskrankungen [1] und die wachsende Anzahl an arbeitsbedingten Lungentumoren stellt neuartige Anforderungen an Ausmaß und Qualität der Sekundärprävention für gegenüber humankanzerogenen Stoffen exponierte Personengruppen. Die höhere Priorität ist hier sicherlich der Primärprävention zuzusprechen und diese hat seit dem generellen Asbestverbot im Jahre 1993 und der Etablierung strenger Arbeitsschutzrichtlinien mittlerweile einen hohen Stand erreicht. Auch der Prävention des Rauchens wird heute ein höherer Stellenwert zugeordnet. So wird zum Beispiel an Hessens Schulen seit dem 1. August 2005 das gesetzliche Rauchverbot [22] konsequent durchgesetzt. Trotzdem rauchen in Deutschland 48% der 20–25 –jährigen Männer und 40% der gleichaltrigen Frauen [11]. Daher und auf Grund der bis zu 60jährigen Latenzzeiten berufsbedingter Tumoren [67] bleiben Maßnahmen zur Sekundärprävention notwendig. Wesentliche Voraussetzungen für effektive sekundärpräventive Maßnahmen im Sinne eines Screenings bzw. der Krankheitsfrüherkennung bei gegenüber humankanzerogenen Stoffen exponierten Personen sind [27]:

- die Eingrenzung von Hochrisikogruppen mit hoher Inzidenz und Sterblichkeit der Tumorerkrankungen
- ein diagnostizierbares präklinisches Stadium der Tumorerkrankung
- eine valide Methode zur Früherkennung der effektiven Therapie zugänglicher Tumorstadien
- ein akzeptables Kosten-Nutzen-Verhältnis

Die Prognose einer Erkrankung an Lungenkrebs hängt wesentlich von dem Tumorstadium ab. So liegt die 5-Jahres-Überlebensrate eines Patienten mit nicht kleinzelligem Lungenkrebs im Stadium I bei etwa 60%, im Stadium IV hingegen nur bei etwa 5%. Methoden zur Verbesserung der Sekundärprävention durch Vorverlegung des Diagnosezeitpunktes besitzen daher einen hohen Stellenwert.

Zur weiteren Eingrenzung der Hochrisikogruppen wurde in dieser Studie die genetische Prädisposition untersucht. Die Voraussetzungen zur Durchführung von Screeninguntersuchungen auf genetisch bedingte Erkrankungen werden dank moderner Methoden immer besser. Großes Interesse richtet sich daher auf die Identifikation von Genen und ihre modifizierenden Effekte auf das Krebsrisiko. Genetische Unterschiede

im Metabolismus kanzerogener Fremdstoffe könnten die individuelle Prädisposition an Lungenkrebs zu erkranken beeinflussen.

Für diese Untersuchungen bieten sich genetische Veränderungen in der Codierung der Fremdstoff metabolisierenden Enzyme aus der Gruppe der Cytochrome und der Glutathion-S-Transferasen (s. Einleitung) an.

Die Häufigkeit genetischer Polymorphismen ist abhängig von der ethnischen Zugehörigkeit einer Population. So tritt z. B. das mutante Allel des *CYP1A1 T6235C* in der asiatischen sowie der afrikanischen Bevölkerung sehr viel häufiger auf als in der kaukasischen (s. Tabelle 50).

Tabelle 50

Genotypfrequenzen des *CYP1A1 T6235C* (*CYP1A1Msp*) in verschiedenen ethnischen Gruppen bei Kontrollpersonen [18]

<i>CYP1A1Msp</i>	wt/wt (%)	wt/mt (%)	mt/mt (%)	Anzahl der untersuchten Personen
Afrikaner	58,1	36,0	5,9	461
Asiaten	42,0	44,0	14,0	638
Kaukasier	82,4	16,4	1,2	4453

In unserer Studie wurde ein Kollektiv untersucht, welches ethnisch den Kaukasiern zuzuordnen ist. Nachfolgend sollen daher in der Literatur beschriebene Ergebnisse berücksichtigt werden, deren untersuchte Populationen die gleiche ethnische Zugehörigkeit besitzen.

5.1 Genotypen, Allelfrequenzen und Risiken

5.1.1 Die CYP1A1 T6235C-Genotypverteilung in der internationalen Literatur

Vergleicht man die Genotypverteilung dieser Studie mit bisher veröffentlichten Daten, so kommt man zu den in Tabelle 51 zusammengefassten Ergebnissen. Die Genotypfrequenzen der Kontrollpersonen lagen in den aufgeführten Untersuchungen zwischen 79,0% [32] und 89,5% [9] für den homozygoten Wildtyp (wt/wt). Die eigenen Daten sind mit 83,1% mit diesen Ergebnissen vergleichbar. Auch bei der Häufigkeit des homozygot mutanten Genotyps (mt/mt) lagen die eigenen Ergebnisse mit 0,2% im Bereich der in der Literatur beschriebenen 0,0% [14] - 2,5% [32]. Bei den Patienten mit Bronchialkarzinom lag die Frequenz für den homozygoten Wildtyp (wt/wt) mit 86,8% ebenfalls im Bereich der Daten der anderen

Studiengruppen mit 73,9% [58] - 87,3% [9]. Das Auftreten der homozygot mutierten Variante lag mit 0,4% nur leicht unter der Häufigkeit der aufgeführten Untersuchungen von 0,7% [5, 7] - 2,3% [32].

Die Allelfrequenzen des *CYP1A1 T6235C* dieser Untersuchung stimmen mit denen internationaler Studien überein.

Auffallend war eine deutliche Abweichung der Genotypverteilung bei den Untersuchungen von Le Marchand et al [38], in denen das mutante Allel sehr viel häufiger beobachtet wurde als in den anderen durchgeführten Studien.

Tabelle 51

Genotypverteilung des *CYP1A1 T6235C* in verschiedenen Studien

Referenz	N Pat / Kontr	Patienten (%)			Kontrollen (%)			
		wt/wt	wt/mt	mt/mt	wt/wt	wt/mt	mt/mt	
	Eigenes Kollektiv	446 / 622	86,8	12,8	0,4	83,1	16,7	0,2
1994	Drakoulis [14]	142 / 171	83,8	15,5	0,7	85,4	14,6	0,0
1996	Jacquet [32]	44 / 81	84,1	13,6	2,3	79,0	18,5	2,5
1996	Xu [95]	207 / 283	82,1	16,9	1	82,3	17	0,7
1997	Bouchardy [9]	150 / 171	87,3	12,0	0,7	89,5	10,5	0
1997	Garcia-Closas [17]	416 / 446	81	18	1	82,7	16,4	0,9
2003	Vineis [86] (Pool)	1759 / 2179	81,9	16,4	1,7	81,6	17,3	1,1
2005	Raimondi (Pool) [58]	165 / 519	73,9	26,1		80,3	19,6	
1998	<i>Le Marchand [38]</i>	<i>339 / 454</i>	<i>54,0</i>	<i>35,7</i>	<i>10,3</i>	<i>55,1</i>	<i>35,2</i>	<i>9,7</i>

5.1.2 Die mit dem CYP1A1 T6235C –Polymorphismus assoziierten Erkrankungsrisiken an Lungenkrebs

Auch die Ermittlung des Erkrankungsrisikos an Lungenkrebs war vielfach Gegenstand internationaler Studien. Diese wird bei Fall-Kontroll-Studien anhand der Odds Ratio geschätzt (s. Tabelle 52). Es wurde untersucht, ob bei vorliegendem mutanten Allel (wt/mt oder mt/mt) ein erhöhtes Erkrankungsrisiko an Lungenkrebs besteht. Die Risiken lagen in Anhängigkeit der Studie zwischen OR=0,71 [32] und OR=2,36 [86] . In der Mehrzahl der angeführten Studien lag kein signifikantes Ergebnis vor [2, 9, 32, 86, 58, 38, 36, 14]. Dies korreliert mit den eigenen Berechnungen bezogen auf das Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der *CYP 1A1 T6235* (OR=1,06; 95%-Konfidenzintervall: 0,7-1,6, s. Kapitel 4.3.1). Signifikant erhöhte

Risiken von OR=2,08; OR=1,5 bzw. OR=2,36 für das Vorliegen eines mutanten Allels berechneten Xu et al [95], Garcia-Closas et al [17] und Vineis et al [86]. Letztere Studie mit Ermittlung der OR von 2,36 bezieht sich allerdings nur auf den homozygot mutierten Genotyp (mt/mt). Die Ergebnisse von Garcia-Closas beinhalten darüber hinaus das Kollektiv von Xu.

Tabelle 52

Referenz	N Fälle/Kontr	OR		KI	Bemerkung
		wt/wt mt/mt	vs wt/mt,		
	Eigenes Kollektiv	446 / 622	1,06	07-1,6	
1994	Drakoulis [14]	142 / 171	1,17	0,62-2,19	wt-Allel vs mt-Allel
1996	Jacquet [32]	44 / 81	0,71	0,27-1,87	
1996	Xu [95]	207 / 283	2,08	1,15-3,73	
1997	Bouchardy [9]	150 / 171	0,9	0,5-1,8	
1997	Garcia-Closas [17]	416 / 446	1,5	1,0-2,3	beinhaltet Daten von Xu
1997	Kelsey [36]	416 / 446	Nicht signifikant		
1998	LeMarchand [38]	341 / 456	1,3	0,9-1,9	
2003	Vineis [86] (Pool)	1759 / 2179	1,02	0,84-1,24	
			2,36	1,16-4,81	mt/mt vs wt/wt
2004	Alexandrie [2]	524 / 530	1,09	0,62-1,92	
2005	Raimondi (Pool) [58]	165 / 519	1,65	0,98-2,77	

OR= Odds Ratio KI=95%-Konfidenzintervall

5.1.3 Die *CYP1A1* A4889G- Genotypverteilung in der internationalen Literatur

Auch hinsichtlich der Genotypverteilung des *CYP1A1* A4889G finden sich in der Literatur einige Angaben (Tabelle 53). Bei den dort aufgeführten Kontrollpersonen ohne Lungenerkrankung lag die Häufigkeit des homozygoten Wildtyps (wt/wt) zwischen 74,0% [38] und 93,6% [14]. Das Auftreten in der eigenen Studie lag mit 90,3% innerhalb dieser Häufigkeiten. Bei dem homozygot mutanten Typ (mt/mt) lagen die Häufigkeiten zwischen 0,0% [14] und 2,9% [38]. Hier lagen die eigenen Daten mit 0,2% eher niedrig. Bei den an Lungenkrebs erkrankten Personen fand sich für den homozygoten Wildtyp eine Frequenz zwischen 78% [38] und 88% [14]. In den eigenen Daten fand sich eine nur leicht höhere Häufigkeit mit 91,7%. Bei der homozygot mutierten Variante lagen die eigenen Daten

mit 0,2% zwischen den in der Literatur beschriebenen 0,0% [24] bis 1,8% [38] Die Allelfrequenzen des *CYP1A1 A4889G* dieser Untersuchung stehen mit den internationalen Daten in guter Übereinstimmung.

Tabelle 53

Referenz	N Pat / Kontr	Patienten (%)			Kontrollen (%)			
		wt/wt	wt/mt	mt/mt	wt/wt	wt/mt	mt/mt	
	Eigenes Kollektiv	446/ 622	91,7	8,1	0,2	90,3	9,5	0,2
1992	Hirvonen [24]	106 / 122	78,3	21,7	0,0	78,7	19,7	1,6
1994	Drakoulis [14]	142 / 171	88,0	10,6	1,4	93,6	6,4	0,0
1998	Le Marchand [38]	341 / 456	78,0	20,2	1,8	74,0	23,2	2,9
2000	Dresler [15]	158 /149	76,6	23,4		88,6	11,4	
2005	Raimondi (Pool) [58]	175 / 723	81,7	18,3		90,7	9,3	

5.1.4 Die mit dem CYP1A1 A4889G-Polymorphismus assoziierten Erkrankungsrisiken an Lungenkrebs

In der Literatur liegen bereits einige Risikoschätzungen für die Lungenkrebserkrankungen und dem *CYP1A1 A4889G*-Polymorphismus vor (Tabelle 54). Dabei wurden im allgemeinen erhöhte Risiken gefunden, die jedoch keine signifikanten Ergebnisse auswiesen (15, 24, 38, 14). Dies trifft auch für unsere Studie mit einer OR =1,09, 95%-Konfidenzintervall: 0,63-1,88 für das Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der *CYP1A1 A4889G* zu (s. Kap. 4.3.2). Signifikant erhöhte Risiken für eine Lungenkrebserkrankung beim Nachweis mindestens eines mutanten Alleles errechneten Dresler et al. [15] für Frauen (OR=1,26; 95%-Konfidenzintervall: 1,5-16,39) sowie Raimondi et al. [58] in einer gepoolten-Datenanalyse (OR=2,04; 95%-Konfidenzintervall: 1,17-3,54).

Tabelle 54

Referenz	N Fälle/Kontr	OR		KI	Bemerkung
		wt/wt	vs wt/mt, mt/mt		
	Eigenes Kollektiv	446 / 622	1,09	0,63-1,88	
1992	Hirvonen [24]	106 / 122	ns		
1994	Drakoulis [14]	142 / 171	2,16	0,96-5,11	wt-Allel vs mt-Allel
1998	Le Marchand [38]	341 / 456	1,0	0,6-1,5	
2005	Raimondi (Pool) [58]	175 / 723	2,04	1,17-3,54	
2000	Dresler [15]	158 / 149	1,37	0,44-4,31	Männlich
			1,26	1,50-16,39	Weiblich

5.1.5 Die CYP1B1-Genotypverteilung sowie die mit dem CYP1B1-Polymorphismus assoziierten Erkrankungsrisiken an Lungenkrebs

Für die Cytochromoxidase-P450-1B1-Polymorphismen ist die Studienlage derzeit noch sehr rar. Eine von der Art der Durchführung und der Größe des Kollektivs mit der unserigen vergleichbare Studie [65] wurde bisher nicht veröffentlicht. Bei unseren Untersuchungen des *CYP1B1*-Gens wurden allerdings weder signifikante Verteilungsunterschiede der Allelfrequenzen zwischen der Kontrollgruppe ohne Lungenkrebs Erkrankung und dem Patientenkollektiv mit Lungenkrebs Erkrankung gefunden, noch gelang es ein erhöhtes Lungenkrebsrisiko für den *CYP1B1*-Polymorphismus zu detektieren (s. Kapitel 4.1.3 und 4.3.3).

5.1.6 Die GSTP1-Genotypverteilung in der internationalen Literatur

Einen Überblick über die in der Literatur beschriebene Genotypverteilung gibt Tabelle 55. Die Genotypfrequenzen der Kontrollpersonen ohne Lungenkrebs Erkrankung lagen in den aufgeführten Untersuchungen zwischen 42,4% [39] und 52,6% [62] für den homozygoten Wildtyp (wt/wt). Die eigenen Daten sind mit 47,9% mit diesen Ergebnissen vergleichbar. Auch bei der Häufigkeit des homozygot mutanten Genotyps (mt/mt) lagen die eigenen Ergebnisse mit 11,3% im in der Literatur beschriebenen Bereich von 4,8% [62] bis 10,6%

[85]. Bei den Patienten mit Bronchialkarzinom lag die Allel-Frequenz für den homozygoten Wildtyp (wt/wt) mit 44,4% ebenfalls im beobachteten Häufigkeitsbereich anderer Studiengruppen 36,6% [39] bis 50,6% [85]. Das Auftreten der homozygot mutierten Variante lag mit 13,9% zwischen den in der internationalen Literatur beschriebenen Häufigkeiten von 4,4% [62] bis 15,9% [61].

Somit sind auch die Allelfrequenzen des *GSTP1*-Polymorphismus mit denen vorheriger Untersuchungen vergleichbar.

Tabelle 55

Referenz	N Pat / Kontr	Patienten (%)			Kontrollen (%)			
		wt/wt	wt/mt	mt/mt	wt/wt	wt/mt	mt/mt	
	Eigenes Kollektiv	446/ 622	44,4	41,7	13,9	47,9	40,8	11,3
1997	Ryberg [61]	138 / 297	38,4	45,7	15,9	51,5	39,4	9,1
1998	Saarikoski [62]	206 / 293	49,0	28,6	4,4	52,6	24,9	4,8
1999	To-Figueras [85]	164 / 132	50,6	39,0	10,4	48,5	40,9	10,6
2002	Lewis [39]	93 / 151	36,6	57,0	6,5	42,4	49,0	8,6
2002	Miller [46]	767 / 927	46,0	42,4	11,6	43,8	46,0	10,2
2002	Stücker [81]	251 / 264	47,8	40,2	12,0	46,9	45,5	7,6

5.1.7 Die mit dem GSTP1-Polymorphismus assoziierten Erkrankungsrisiken an

Lungenkrebs

Auch zur Risikoabschätzung in Abhängigkeit von den *GSTP1*-Polymorphismen liegen bereits verschiedene Daten vor. Erhöhte Risiken einer Lungenkrebserkrankung bei mutiertem *GSTP1*-Gen beschrieben To-Figueras et al. [85], Lewis et al [39] sowie Miller et al. [46]. Diese Ergebnisse waren jedoch allesamt nicht signifikant. Dies korreliert mit den eigenen Berechnungen (OR=1,03; 95%-Konfidenzintervall: 0,76-1,39) zum Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen des *GSTP1*-Gens (s. Kapitel 4.3.4). Signifikant erhöhte Lungenkrebsrisiken für das mutante Allel berechneten dagegen Ryberg et al. [61] sowie Stücker et al. [81], wobei sich diese Berechnungen allerdings auf Personen mit einem Wildtypallel gegenüber Personen mit homozygot mutierter Genotypausprägung beziehen.

Tabelle 56

Referenz	N Fälle/Kontr	OR	KI	Bemerkung	
	Eigenes Kollektiv	446/ 622	1,03	0,76-1,39	
1997	Ryberg [61]	138 / 297	1,7	1,13-2,57	
1999	To-Figueras [85]	164 / 132	1,18	0,67-2,07	
2002	Lewis [39]	93 / 151	1,28	0,75-2,17	
2002	Miller [46]	767 / 927	n.s.		
2002	Stücker [81]	251 / 264	2,0	1,0-4,1	W/m+w/w vs m/m

5.1.8 Die *GSTM1*-Genotypverteilung in der internationalen Literatur

Zu Genpolymorphismen der *GSTM1* wurden bereits vielfältige Studien durchgeführt, eine Auswahl findet sich in Tabelle 57. Die Frequenzen für das vorhandene Gen lagen bei den Kontrollpersonen in den aufgeführten Untersuchungen zwischen 40,2% [15] und 56,2% [41]. Die eigenen Daten sind mit 52,7% mit diesen Ergebnissen vergleichbar. Bei den Patienten mit Bronchialkarzinom lag die von uns beobachtete Frequenz für das vorhandene Gen mit 47,5% ebenfalls im Häufigkeits-Bereich anderer Studiengruppen mit 39,1% [15] bis 51,9% [62]. Deutlich mehr Patienten mit positivem *GSTM1*-Genotyp fanden Lewis et al. [39] mit 64,4%. In deren Studie wurde jedoch ein deutlich kleineres Kollektiv einbezogen.

Tabelle 57

Referenz	N Pat / Kontr	Patienten (%)		Kontrollen (%)		
		pos	neg	pos	Neg	
	Eigenes Kollektiv	446/ 622	47,5	52,5	52,7	47,3
1997	Ryberg [61]	135 / 113	45,2	54,8	53,1	46,9
1998	Saarikoski [62]	208 / 294	51,9	48,1	53,4	46,6
1999	Woodson [94]	319 / 333	49,8	50,2	51,4	48,6
2000	Dresler [15]	169 / 164	39,1	60,9	40,2	59,8
2000	Malats [41]	122 / 121	45,9	54,1	56,2	43,8
2000	Spitz [75]	503 / 465	50,6	49,4	51,2	48,8
2002	Miller [46]	767 / 927	44,9	55,1	45,6	54,4
2002	Stücker [81]	247 / 254	47,8	52,2	53,5	46,5
2004	Alexandrie [2]	524 / 530	45,2	54,8	45,3	54,7
2005	Raimondi (Pool) [58]	531/ 1981	45,6	54,4	48,7	51,3
2002	Lewis [39]	87 / 143	64,4	35,6	47,6	52,4

5.1.9 Die mit dem *GSTM1*-Polymorphismus assoziierten Erkrankungsrisiken an

Lungenkrebs

Zur Abschätzung eines erhöhten Risikos bei fehlendem Nachweis eines *GSTM1*-Allels, dem sog. *GSTM1*-Null-Typ Gen, wurden vielfältige Daten erhoben, welche zu unterschiedlichen Risikoabschätzungen zum Auftreten an Lungenkrebs kamen (s. Tabelle 58). Ein nicht signifikant erhöhtes Risiko fand sich in der Mehrzahl der Studien mit Patienten kaukasischer Herkunft [2, 15, 75, 61, 46, 41, 94, 81, 58]. In den eigenen Berechnungen bestätigte sich dies (Odds Ratio=1,34; 95%-Konfidenzintervall: 0,99-1,81) für das Lungenkrebsrisiko bei Polymorphismen der *GSTM1* (s. Kapitel 4.3.5). Ein signifikant erniedrigtes Risiko fanden Lewis et al. [39]. Spitz et al. [75] hingegen fanden ein signifikant erhöhtes Risiko. Dies bezog sich jedoch nur auf eine Personengruppe mit niedriger ITC-Aufnahme (Isothiocyanate) mit der Nahrung. Isothiocyanate gelten als Nahrungsmittel mit protektiver Potenz gegenüber Karzinogenen. Dies wird u. a. auf eine Induktion der Phase-II-Enzyme zurückgeführt [75]. In den anderen aufgeführten Studien fand dieser diätetische Faktor keine Berücksichtigung.

Tabelle 58

Referenz	N Fälle/Kontr	OR	KI	Bemerkung
Eigenes Kollektiv	446/ 622	1,34	0,99-1,81	
1997 Ryberg [61]	135 / 113	1,33	0,89-1,99	Männer
1999 Woodson [94]	319 / 333	1,09	0,79-1,50	Männer
2000 Dresler [15]	169 / 164	1,00	0,45-2,25	Männer
		1,26	0,59-5,67	Frauen
2000 Malats [41]	122 / 121	1,5	0,9-2,7	Nur Nieraucher
2000 Spitz [75]	503 / 465	1,55	0,79-3,04	Hohe ITC-Aufnahme mit der Nahrung
		2,22	1,20-4,10	Niedrige ITC-Aufnahme mit der Nahrung
2002 Lewis [39]	87 / 143	0,50	0,29-0,87	
2002 Miller [46]	767 / 927	n.s.		
2002 Stücker [81]	247 / 254	1,4	0,9-2,1	
2004 Alexandrie [2]	524 / 530	1,02	0,73-1,44	
2005 Raimondi (Pool) [58]	531 / 1981	1,03	0,84-1,26	

ITC= Isothiocyanate

5.1.10 Die *GSTT1*-Genotypverteilungen in der internationalen Literatur

Vergleicht man die Genotypverteilung dieser Studie mit bisher veröffentlichten Daten, so kommt man zu den in Tabelle 59 zusammengefassten Ergebnissen. Die Genotypfrequenzen der Kontrollpersonen lagen in den aufgeführten Untersuchungen zwischen 77,3% [75] und 86,7% [62] für das vorhandene Allel. Die eigenen Daten sind mit 81,5% mit diesen Ergebnissen vergleichbar. Deutlich niedriger lagen die Angaben zur Allelhäufigkeit von Malats et al. [41] mit 63,6%. Auch bei der Häufigkeit des vorhandenen Allels bei den Bronchialkarzinompatienten lagen die eigenen Daten mit 83,2% im Bereich derer anderer Studiengruppen 72,7% [75] bis 87,3% [62].

Die Allelfrequenzen des *GSTT1* dieser Untersuchung sind mit denen vorheriger Studien gut vergleichbar.

Tabelle 59

Referenz	N Pat / Kontr	Patienten (%)		Kontrollen (%)		
		pos	neg	Pos	Neg	
	Eigenes Kollektiv	446/ 622	83,2	16,8	81,5	18,5
1998	Saarikoski [62]	208 / 294	87,3	12,7	86,7	13,3
2000	Malats [41]	122 / 121	73,8	26,2	63,6	36,4
2000	Spitz [75]	503 / 465	72,7	27,3	77,3	22,7
2002	Lewis [39]	87 / 143	78,2	21,8	80,4	19,6
2002	Stücker [81]	251 / 268	84,9	15,1	80,6	19,4
2004	Alexandrie [2]	524 / 530	87,0	13,0	86,0	14,0
2005	Raimondi (Pool) [58]	378/ 1026	74,3	25,7	81,4	18,6

5.1.11 Die mit dem *GSTT1*-Polymorphismus assoziierten Erkrankungsrisiken an

Lungenkrebs

Risikoabschätzungen für das Auftreten von Lungenkrebs mit dem *GSTT1*-Genpolymorphismen wurden mehrfach durchgeführt (s. Tabelle 60). Dabei wurden i.a. nicht signifikant veränderte Risiken gefunden [2, 75, 41, 81, 58, 39]. Dieses Ergebnis korreliert mit den eigenen Berechnungen (Odds Ratio=0,88; 95%-Konfidenzintervall: 0,59-1,32) für das Lungenkrebsrisiko bei *GSTT1*-Polymorphismen (s. Kapitel 4.3.6). Ein signifikant erhöhtes

Risiko fanden Spitz et al. [75] für Personen mit niedriger Aufnahme von Isothiocyanaten mit der Nahrung.

Tabelle 60

Referenz	N Fälle/Kontr	OR	KI	Bemerkung
Eigenes Kollektiv	446/ 622	0,88	0,59-1,32	
2000 Malats [41]	122 / 121	0,6	0,3-1,2	
2000 Spitz [75]	503 / 465	1,31	0,60-2,85	Hohe ITC-Aufnahme mit der Nahrung
		3,19	1,54-6,62	Niedrige ITC-Aufnahme mit der Nahrung
2002 Lewis [39]	87 / 143	1,15	0,60-2,22	
2002 Stücker [81]	251 / 268	0,8	0,4-1,3	
2004 Alexandrie [2]	524 / 530	0,85	0,51-1,40	
2005 Raimondi (Pool) [58]	378/ 1026	1,23	0,91-1,66	

ITC= Isothiocyanate

5.2 Untersuchungen der Polymorphismen in Abhängigkeit vom histologischen Typ der Lungenkrebserkrankung

Es erfolgte eine Analyse der Genpolymorphismen hinsichtlich des histologischen Tumortyps, um einen eventuell diesbezüglichen Einfluss nachweisen zu können. So werden z.B. Plattenepithelkarzinome mit einem Rauch-Konsum assoziiert [82]. Sollte eine veränderte Enzymaktivität zu einer Konzentrationsänderung von PAH mit der Folge einer ungenügenden „Entgiftung“ dieser bekanntermaßen humankanzerogenen Gefahrstoffe führen, könnte dies anhand der Untersuchungen mit einer Risikoänderung für das Auftreten von Plattenepithelkarzinomen nachweisbar sein.

5.2.1 Der Einfluss von Cytochromoxidasen auf bestimmte Karzinomtypen

Für den homozygot mutierten Typ des *CYP1A1 T6235C* fanden Vineis et al. [86] ein signifikant erhöhtes Risiko für Plattenepithel- sowie für Adenokarzinome mit einer OR von 2,89 bzw. OR=2,59 (95%-Konfidenzintervall: 1,09-7,67 bzw. 1,01-6,68). Le Marchand et al. [38] fanden mit einer OR von 2,4 (95%-Konfidenzintervall: 1,2-4,7) ein signifikant erhöhtes

Risiko für Patienten mit Plattenepithelkarzinom. Allerdings handelte es sich um ein gemischtes Kollektiv aus Japanern und Kaukasiern.

In Übereinstimmung mit anderen Studien zeigten unsere Ergebnisse keinen Zusammenhang zwischen den Genpolymorphismen und den histologischen Tumortypen [2, 9, 14, 24, 72].

5.2.2 Der Einfluss von Glutathion-S-Transferasen auf bestimmte Karzinomtypen

Stücker et al. [81] beschrieben ein signifikant erhöhtes Risiko für Patienten mit kleinzelligem Bronchialkarzinom bei homozygot mutierten *GSTP1*-Allelen mit einer OR von 3,6 (95%-Konfidenzintervall: 1,3–9,6). Signifikant mehrere *GSTM1*-Null-Allele fanden Stücker et al. [81] bei Patienten mit Adenokarzinom (OR=2,2; 95%-KI: 1,1–4,2). Hirvonen et al. [25] fanden eine Assoziation des *GSTM1* Null-Genotyps bei Patienten mit Plattenepithelkarzinom (OR=2,1; 95%-KI: 1,2–3,8). Bei einer Erweiterung des Studienkollektivs in den darauf folgenden fünf Jahren war dieser Unterschied allerdings nicht mehr signifikant. Lewis et al. [39] fanden mit einer OR von 0,32 (95%-KI: 0,12–0,82) eine Risikominderung für Plattenepithelkarzinome bei *GSTM1*-Null-Genotyp.

Eine Mehrzahl der Forschungsgruppen [2, 7, 39, 41, 62, 16, 94, 83] beschrieb allerdings nicht signifikante Unterschiede für die Glutathion-S-Transferasen, was mit unseren Ergebnissen korreliert. Allerdings findet sich in unserer Untersuchung eine grenzwertig signifikante Erhöhung der Plattenepithelkarzinome bei Patienten mit *GSTM1*-Defizienz (OR=1,51; 95%-Konfidenzintervall: 0,99-2,29).

5.3 Untersuchungen der Polymorphismen in Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum

Cytochromoxidasen und Glutathion-S-Transferasen spielen im menschlichen Organismus eine entscheidende Rolle bei der Metabolisierung der Karzinogene, welche beim Rauchen aufgenommen werden. Es wurde daher angenommen, dass genetische Mutationen, welche eine Aktivitätsänderung dieser Enzyme bewirken, im Zusammenhang mit dem Zigarettenkonsum zu einem höheren Erkrankungsrisiko an Lungenkrebs führen können. Dies wurde von uns untersucht. Es zeigte sich bei unseren Untersuchungen ein deutlich erhöhtes Erkrankungsrisiko bei steigendem Zigarettenkonsum (s. Tabelle 32 bis Tabelle 37). So stieg das Erkrankungsrisiko z. B. bei den *GSTP1*-Polymorphismen für den Wildtyp bei Rauchern mit bis zu 20 PJ auf das dreifache gegenüber einem Nieraucher, bei 21–40 PJ auf etwa das 8-fache, bei 41–60 PJ auf das 37-fache und schließlich bei Rauchern mit mehr als 60 PJ auf das über 50-fache Risiko an (vergl. Abbildung 6). Dies war im Prinzip unabhängig von den

Enzym polymorphismen zu beobachten (s. Kapitel 4.4) und bestätigt frühere epidemiologische Untersuchungen [63]. Betrachtet man nun die Polymorphismen in Abhängigkeit der kumulativen Zigarettenendosis, so lässt sich allerdings kein signifikanter Unterschied zwischen den Wildtypen und den jeweiligen Mutanten nachweisen. Im nachfolgenden sollen die Studien dargelegt werden, die einen Einfluss auf das Lungenkrebsrisiko bei Trägern der Genmutationen in Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum untersuchten.

5.3.1 Zusammenhang zwischen den Polymorphismen der Cytochromoxidasen und dem Risiko einer Lungenkrebskrankung in Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum

Bei verschiedenen durchgeführten Studien wurde eine Abhängigkeit des Erkrankungsrisikos vom Zigarettenkonsum untersucht. Dazu wurden die Patienten je nach Studiengruppe in unterschiedliche Gruppierungen in Abhängigkeit von der kumulativen Zigarettenendosis eingeteilt. Alexandria et al. [2] teilten die Raucher in nur zwei Gruppen auf: schwache Raucher mit bis zu 21 PJ und starke Raucher mit über 21 PJ. Bei Garcia-Closas et al. [17] erfolgte die Einteilung wie in unserer Studie in vier Untergruppen (1–20 PJ, 21–40 PJ, 41–60 PJ, > 60 PJ). Shields et al. [72] unterteilte in <40 PJ, 40–59 PJ und >60 PJ. Bei Vineis et al. wurde wiederum eine andere Einteilung gewählt: 1–23 PJ, 24–33 PJ, 34–43 PJ und 44–70 PJ. Eine direkte Vergleichbarkeit ist daher nicht gegeben. Jedoch ließ sich in keiner der aufgeführten Untersuchungen ein signifikanter Zusammenhang zwischen den Polymorphismen der Cytochromoxidasen und dem Risiko einer Lungenkrebskrankung in Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum nachweisen. Dieses Ergebnis korreliert mit dem unseren.

5.3.2 Zusammenhang zwischen Polymorphismen der Glutathion-S-Transferasen und dem Risiko einer Lungenkrebskrankung in Abhängigkeit vom Zigarettenkonsum

Für das *GSTM1*-Gen fanden mehrere Autoren signifikant erhöhte Risiken bei Rauchern mit der *GSTM1*-Null-Variante. So fanden London et al. [40] ein erhöhtes Risiko (OR=1,77; 95%-KI: 1,11-2,82) für Raucher mit weniger als 40 PJ. Bei höherem Zigarettenkonsum (>40 PJ) war kein Zusammenhang zwischen Erkrankungsrisiko und Genotypausprägung nachzuweisen. Dies korreliert mit den Ergebnissen von Alexandria et al. [2], wo bei Rauchern mit bis zu 21 PJ und *GSTM1*-Null-Variante ein erhöhtes Lungenkrebs-Risiko beschrieben wird (OR=2,68; 95%-KI: 1,00-7,94), während bei stärkeren Rauchern (>21 PJ) dies nicht mehr beobachtet wird. To-Figueras et al. [84] berichteten ebenso über ein erhöhtes Risiko

(OR= 1,77) bei der mutierten *GSTM1*-Variante und Rauchern mit bis zu 50 PJ. Andere Autoren fanden in Übereinstimmung mit unserer Untersuchung keine signifikanten Ergebnisse [7, 17, 41, 81, 80, 53, 94].

Auch für die *GSTP1*-Polymorphismen fanden sich Hinweise auf Zusammenhänge mit einem erhöhtem Lungenkrebsrisiko bei Rauchern. Jourenkova-Mironova et al. [34] beschrieben Zusammenhänge zwischen *GSTP1*-Polymorphismen und dem Zigarettenkonsum mit erhöhtem Lungenkrebs-Risiko bei Rauchern >35 PJ und vorliegender kombinierter Genmutation von *GSTP1*, *GSTM1* und *GSTM3* (OR=2,7, 95%-KI: 1,2-6,0). Miller et al. [47] beschrieben ein erhöhtes Risiko für Raucher mit homozygot mutiertem Genotyp (OR=13; 95%-KI: 6,5-25) im Vergleich zu Rauchern mit *GSTP1* AA-Genotyp (wt/wt) (OR=6,1; 95%-KI: 4,9-7,5). In anderen Studien wurden wiederum keine signifikanten Zusammenhänge beschrieben [81]. Dies deckt sich mit unseren Ergebnissen.

Bei den Untersuchungen zu dem *GSTT1*-Polymorphismus fanden wir keine signifikanten Risikoveränderungen bei Rauchern mit defizientem Allel. Dies korreliert mit verschiedenen Studien [41, 81]. Alexandrie et al. [2] beschreiben allerdings bei Bronchialkarzinompatienten ein signifikant erniedrigtes Risiko für die Null-Variante bei Rauchern mit über 21 PJ (OR=0,36; 95%-KI: 0,13-0,99). In der Veröffentlichung wird jedoch die Möglichkeit in Betracht gezogen, dass dieses Ergebnis nach Durchführung vielfältiger Analysen zufällig als signifikant erscheint.

Auf Grund der niedrigen Fallzahl an Lungenkrebs bei den Nierauchern gestaltete sich eine statistische Auswertung in dieser Studie schwierig. So fanden sich z. B. bei den *CYP1A1* T6235C-Polymorphismen nur zwei Lungenkrebspatienten mit mutiertem Genotyp, welche noch nie in Ihrem Leben geraucht hatten, bei den *CYP1A1* A4889G-Polymorphismen war es sogar lediglich eine Person. Die Ergebnisse dieser Studie waren für die sechs untersuchten Polymorphismen bei niedriger Fallzahl erwartungsgemäß nicht signifikant. Hung et al. [29] fanden bei Nichtrauchern in einer gepoolten Metaanalyse mit 82 Fällen und 652 Kontrollen ein signifikant erhöhtes Risiko für Patienten mit der *CYP1A1* A4889G-Mutation (wt/mt; mt/mt), die Odds ratio betrug OR=2,21 (95%-Konfidenzintervall: 1,12-4,37).

Die oben aufgeführten zum Teil unterschiedlichen Ergebnisse der Studiengruppen sind abhängig von der Raucherstratifizierung mit der damit verbundenen unterschiedlichen Einstufung des Rauchverhaltens (siehe Kapitel 5.3.1). Damit ist eine Vergleichbarkeit

erschwert. In unserer Studie ließen sich auf Grund der gewählten Gruppeneinteilungen eindeutige Dosis-Wirkungs-Beziehungen ableiten. (Siehe Kapitel 4.4).

5.4 Untersuchungen der Polymorphismen in Abhängigkeit von kanzerogenen Gefahrstoffeinwirkungen am Arbeitsplatz

Neben dem Rauchen gelten weitere inhalative Kanzerogene am Arbeitsplatz als Ursache von Lungenkrebskrankungen. Darunter fallen insbesondere Asbest- und Quarzstaubexposition am Arbeitsplatz. Ebenso ist die ionisierende Strahlung im Uranbergbau als Ursachenfaktor bekannt. Ein das Krankheitsgeschehen modifizierender Einfluss der metabolisierenden Enzyme erscheint überprüfenswert, so dass die Frage untersucht werden sollte, in wie weit sich Veränderungen in der Enzymaktivität durch genetische Mutationen auf das Erkrankungsrisiko auswirken. In dieser Arbeit wurden dazu Patienten mit anerkannten Berufskrankheiten herangezogen, um die Einwirkung zu objektivieren. Hierfür wurden Patienten mit den Berufskrankheiten mit der BK-Nr. 4103 und 4104 für die Einwirkung von Asbest, 4101 und 4112 bei Einwirkung von Quarzstaub und die BK-Nr. 2402 als durch ionisierende Strahlen verursachte Bronchialkarzinome gewählt. Daraufhin wurden das Erkrankungsrisiko für diese Gruppen in Abhängigkeit von den verschiedenen Polymorphismen untersucht. Da nicht alle Personen eine Gefahrstoff-Einwirkung am Arbeitsplatz aufwiesen, verringerte sich das Kollektiv hinsichtlich der Anzahl deutlich (siehe Tabelle 7). Es konnten 385 Personen mit benignen Lungenerkrankungen und 86 Lungenkrebspatienten gegenüber 184 gesunden Personen als Referenzkollektiv untersucht werden. Eine von der Vielfalt der Expositionen und der Größe des Kollektivs mit der unserigen vergleichbare Studie wurde bisher nicht veröffentlicht.

Wir konnten für keine der Kanzerogene (Asbest, Quarzstaub, ionisierende Strahlung) einen Zusammenhang mit den Enzym polymorphismen bei der Lungenkrebsentstehung nachweisen (siehe Kap.4.5). Auch für benigne Lungenerkrankungen durch diese Gefahrstoffe (Asbestose, Silikose) konnte keine Assoziation mit den untersuchten Genmutationen festgestellt werden (siehe Kap.4.5). Des weiteren wurde die Auswirkungen der Genmutationen bei Patienten mit Pleuramesotheliom untersucht, auch hier fand sich kein signifikanter Zusammenhang. Zudem erfolgte eine Stratifizierung nach Zigarettenkonsum, um einen synergistischen Effekt der humankanzerogenen Arbeitsstoffe und dem Tabakkonsum auf das Erkrankungsrisiko zu untersuchen. Auch hierbei ließ sich kein Zusammenhang zu den Enzym polymorphismen darstellen.

In den bisher vorliegenden Studien wurde lediglich das Zusammenwirken von Asbestexposition und Enzym polymorphismen untersucht. Meist wurde die Entstehung benigner Lungenveränderungen betrachtet. So beschrieben Smith et al. [74] ein signifikant erhöhtes Auftreten von Asbestlungenerkrankungen bei Personen, bei denen ein *GSTM1*-Null-Genotyp vorlag. Jakobsson et al. [33] konnten diese Assoziation nicht bestätigen.

Hirvonen et al. [26] beschrieben ebenso keine signifikante Veränderungen bei isolierter Betrachtung der GST-Polymorphismen. Allerdings konnte eine signifikante Zunahme der Lungenerkrankungen nach Asbesteinwirkung festgestellt werden, wenn gleichzeitig zur *GSTM1*-Defizienz eine Veränderung der N-Acetyltransferase vorlag, welche die Patienten zu so genannten Langsamacetylierern machte.

Stücker et al. untersuchten die Assoziation zwischen *GSTM1*- und *GSTT1*-Genotypausprägung, Asbesteinwirkung und Lungenkrebsentstehung [79]. Es konnte in Abhängigkeit der Genpolymorphismen kein erhöhtes Lungenkrebsrisiko nach Asbesteinwirkung für Personen mit Enzym polymorphismen nachgewiesen werden.

5.5 Schlussfolgerung

Zusammenfassend wurde die vorliegende Studie an einem umfangreichen Kollektiv durchgeführt. Sämtliche Analysen der Genpolymorphismen von den Fremdstoffmetabolisierenden Enzymen *CYP1A1*, *CYP1B1*, *GSTM1*, *GSTP1* und *GSTT1* haben hinsichtlich des Einflusses auf das Risiko einer Lungenkrebserkrankung keine signifikanten Assoziationen erkennen lassen. Dieser fehlende Zusammenhang gilt ebenso bei Betrachtung des histologischen Tumortyps, des Zigarettenkonsums sowie unter besonderer Berücksichtigung humankanzerogener Gefahrstoffeinwirkung am Arbeitsplatz. Dieses Ergebnis korreliert mit der Mehrzahl der in der kaukasischen Bevölkerung durchgeführten Studien. Die in der Literatur feststellbare inkongruente Datenlage kann neben eventuellen systematischen Fehlern und der ethnischen Wahl des untersuchten Kollektivauswahl durch in vielen Studien niedrige Probandenzahlen mitbegründet werden. Hirschhorn et al. [22] sowie Bogardus et al. [8] bewerteten einen Großteil der bisher durchgeführten Studien auf Grund methodischer Mängel daher sehr kritisch. In dieser Untersuchung sind vielfältige Einflussfaktoren einer Risikomodifikation an einem größeren Personenkollektiv berücksichtigt worden. Von besonderer Bedeutung ist hier, dass Gen-Fremdstoff-Interaktionen nur durch sehr umfangreiche Studien zuverlässig untersucht werden können. Die Meta- und gepoolten Analysen von Houlston et al. [28] sowie von Benhamou et al. [7]

konnten in Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen keine signifikanten Effekte der Genpolymorphismen nachweisen.

Zudem scheint in dem komplexen System der Fremdstoffmetabolisation die Veränderung eines isolierten Enzyms allein keine überragende Rolle bei der Entstehung von Lungenkrebs zu haben. Die Daten lassen Hinweise zu, dass eine Kompensation durch andere Enzyme besteht. Die Analyse der Kombinationswirkungen und der vielfältigen Gen-Gen-Interaktionen ist mit neueren Methoden (Fuzzy-Technologien) zu prüfen.

6 Zusammenfassung

Der menschliche Organismus ist in seiner Umwelt ständig potentiell gesundheitsgefährdenden Stoffen ausgesetzt. Die bei jedem Individuum unterschiedlichen gesundheitlichen Auswirkungen dieser Fremdstoffe werden einerseits auf Faktoren wie Alter, Erkrankungen, Ernährung und Lebensstil zurückgeführt, andererseits aber auch auf die genetische Ausstattung an Enzymen, welche am Fremdstoffmetabolismus beteiligt sind. Für viele dieser Enzyme, zu denen insbesondere die Cytochromoxidasen und Glutathion-S-Transferasen zählen, sind Genpolymorphismen bekannt. Diese Mutationen können eine verringerte oder gar fehlende Aktivität des Enzyms bewirken. Es erscheint daher plausibel, dass Veränderungen in der genetischen Information dieser Enzyme zu einer reduzierten Detoxifikation der gesundheitsgefährdenden Fremdstoffe führen und damit eine erhöhte Erkrankungswahrscheinlichkeit begünstigen können. In dieser Studie wurden Polymorphismen der Cytochromoxidasen *CYP1A1*, *CYP1B1* sowie der Glutathion-S-Transferasen *GSTM1*, *GSTP1*, *GSTT1* im Hinblick auf ein verändertes Lungenkrebsrisiko untersucht. Diese Enzyme gehören zu den wichtigsten Faktoren der Fremdstoffmetabolisation beim Menschen und stellen damit Suszeptibilitätsmarker dar.

Während in asiatischen Studien ein Zusammenhang insbesondere zwischen *CYP1A1* und *GSTM1*-Polymorphismen und Lungenkrebskrankungen beschrieben wird [37, 50], konnten wir in unserer Studie an einem kaukasischen Kollektiv mit 446 Bronchialkarzinompatienten und 622 Kontrollpersonen keine Assoziation zwischen den Genpolymorphismen und dem Erkrankungsrisiko an Lungenkrebs nachweisen.

Eine Unterteilung der Patienten nach histologischen Tumorarten führte ebenso zu keinen signifikanten Zusammenhängen zwischen dem Karzinomtyp und der Allelausprägung.

Um eine Abhängigkeit von der Dosis des Kanzerogens zu untersuchen, wurden die Personen nach ihrem Zigarettenkonsum stratifiziert. Auch dosisabhängig konnten keine Assoziation mit den jeweiligen untersuchten Genotypen festgestellt werden.

Zusätzlich sollte der Einfluss auf Erkrankungen nach Einwirkung kanzerogener Gefahrstoffe am Arbeitsplatz (Asbest, Quarzstaub, ionisierende Strahlung) untersucht werden. Es fand sich auch bei diesen Untersuchungen keine signifikante Risikoänderung in Abhängigkeit von den Polymorphismen.

Dieses Ergebnis stimmt mit der Mehrzahl der durchgeführten Studien in der kaukasischen Bevölkerung überein. Die vereinzelt beschriebenen signifikanten Zusammenhänge konnten in dieser Untersuchung nicht bestätigt werden. Die inkongruente Studienlage kann durch eine

häufig niedrige Probandenzahl begründet werden. Gen-Fremdstoff-Interaktionen lassen sich nur durch sehr umfangreiche Studien zuverlässig bestimmen.

Zur Zeit sind die beschriebenen Suszeptibilitätsmarker nicht zum Screening und für Vorhersagen über das individuelle Krankheitsrisiko geeignet. Ein positiver prädiktiver Wert im Hinblick auf eine zuverlässige Vorhersage einer Erkrankungswahrscheinlichkeit ist aus dieser Untersuchung nicht ableitbar. Zudem scheint in dem komplexen System der Fremdstoffmetabolisation die Veränderung eines isolierten Enzyms allein keine überragende Rolle bei der Entstehung von Lungenkrebs zu haben. Die Daten lassen Hinweise zu, dass eine Kompensation durch andere Enzyme besteht.

Zur weiteren Beurteilung des komplexen Systems der Fremdstoffmetabolisation sind Analysen unter Berücksichtigung der Kombinationen der untersuchten Gen-Polymorphismen erforderlich.

Summary

Constantly the human organism is exposed to substances which are potentially injurious to health. The varying effects of these agents on different individuals are on the one hand attributed to factors like age, illness, nutrition and life-style, on the other hand attributed to the individual equipment of enzymes that take part in activation or detoxification of environmental carcinogens. For many of these enzymes like cytochrome-P450 and glutathione-s-transferases polymorphisms are known. These mutations are in a position to reduce or even delete the enzymes' activity. Therefore it seems plausible that changes in the genetic information of these enzymes can lead to a reduced detoxification of carcinogens and thus promote a higher probability of illness.

In this study polymorphisms of *CYP 1A1*, *CYP 1B1*, *GSTM1*, *GSTP1* and *GSTT1* were examined with regard to a different risk of lung cancer. The mentioned enzymes belong to the most important factors of the metabolism of environmental carcinogens. Whereas in Asian studies a connection especially between *CYP 1A1*- and *GSTM1*-polymorphisms and lung cancer is described, in our study on a Caucasian population we could not establish an association between the polymorphisms and lung cancer risk for 446 lung cancer patients and 622 controls. Also a subdivision into histological types of cancer did not show a significant connection between the type of cancer and the allele. To examine a dependence of the carcinogen's dose persons were stratified by their cigarette-consumption. Not either dependent on the dose an association with the different genotypes could be shown. In addition the influence on illness after exposition of carcinogens at the working place (asbest, quartz, ionizing radiation) was examined. We could not find a significant change of risk in dependence on the polymorphisms. These findings correlate with most of the studies on Caucasian population. Sporadically described significant associations could not be confirmed by this study. The incongruent results can mostly be explained by a low number of probands. Gene-carcinogen-interactions can only be determined reliably by very extensive examinations.

At present time the described enzymes are not suitable for screening and prediction of the individual lung cancer risk. Furthermore in the complex system of metabolising enzymes the isolated change of one enzyme seems to have no consequence on lung cancer risk. The data suggests a compensation through other participating enzymes.

For further assessment of the complex system of metabolising enzymes analyses considering the combinations of the examined polymorphisms are necessary.

7 Literaturverzeichnis

1. Alberg AJ, Brock MV, Samet JM: Epidemiology of lung cancer: looking to the future. *J Clin Oncol* (2005), 23, 3175-3185
2. Alexandrie AK, Nyberg F, Warholm M, Rannug A: Influence of CYP1A1, GSTM1, GSTT1 and NQO1 genotypes and cumulative smoking dose on lung cancer risk in a swedish population. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* (2004); 13: 908-914
3. Alexandrie AK, Sundberg MI, Seidegard J, Tornling G, Rannug A: Genetic susceptibility to lung cancer with special emphasis on CYP1A1 and GSTM1: a study on host factors in relation to age at onset, gender and histological cancer types. *Carcinogenesis* (1994), 15: 1785-1790
4. Ali-Osman F, Akande O, Antoun G, Mao JX, Buolamwini J: Molecular cloning, characterization and expression in *Escherichia coli* of full length cDNAs of three human glutathione S-transferase Pi gene variants. Evidence for differential catalytic activity of the encoded proteins. *J Biol Chem* (1997), 272, 10004-10012
5. Amos CI, Caporaso NE, Weston A: Host factors in lung cancer risk: a review of interdisciplinary studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* (1992), 1: 505-513
6. Becher H: Epidemiologie des Bronchialkarzinoms unter besonderer Berücksichtigung des Passivrauchens. *Onkologe* (1995), 1: 417-423
7. Benhamou S, Jin Lee W, Alexandrie AK, Boffetta P, Bouchardy C, Butkiewicz D, Brockmüller J, Clapper ML, Daly A, Dolzan V, Ford J, Gaspari L, Haugen A, Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Ingelman-Sundberg M, Kalina I, Kihara M, Kremers P, LeMarchand L, London SJ, Nazar-Stewart V, Onon-Kihara M, Rannug A, Romkes M, Ryberg D, Seidegard J, Shields P, Strange RC, Stücker I, To-Figueras J, Brennan P, Taioli E: Meta- and pooled analyses of the effects of glutathione S-transferase M1 polymorphisms and smoking on lung cancer risk. *Carcinogenesis* (2002), 23: 1343-1350
8. Bogardus ST, Concato J, Feinstein AR: Clinical epidemiological quality in molecular genetic research. The need for methodological standards. *J. Am. Med. Ass.* (1999), 26: 1919-1926
9. Bouchardy C, Wikman H, Benhamou S, Hirvonen A, Dayer P, Husgafvel-Pursiainen K: CYP1A1 genetic polymorphisms, tobacco smoking and lung cancer risk in a French Caucasian population. *Biomarkers* (1997), 2: 131-134

10. Brockmöller J: Fremdstoffmetabolismus und Krebs: Molekular-epidemiologische Forschung. In: Ganten D, Ruckpaul K (Hrsg): Tumorerkrankungen. Heidelberg (1998): Springer, 218-259
11. Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung: Die Drogenaffinität Jugendlicher in der Bundesrepublik Deutschland – Wiederholungsbefragung 2001, Köln: Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung, Eigenverlag, Köln
12. Butz M: Beruflich verursachte Krebserkrankungen 1978-1997. Hauptverband der gewerblichen Berufsgenossenschaften (Hrsg.), Sankt Augustin (1999)
13. Daly AK: Molecular basis of polymorphic drug metabolism. *J Mol Med* (1995), 73, 539-553
14. Drakoulis N, Cascorbi I, Brockmöller J, Gross CR, Roots I: Polymorphisms in the human CYP1A1 gene as susceptibility factors for lung cancer: exon-7 mutation (4889 A to G), and a T to C mutation in the 3'-flanking region. *Clin Investig* (1994), 72, 240-248
15. Dresler CM, Fratelli C, Babb J, Everley L, Evans AA, Clapper ML: Gender differences in genetic susceptibility for lung cancer. *Lung Cancer* (2000), 30, 153-160
16. El-Zein R, Zwischenberger JB, Wood TG, Abdel-Rahman S, Brekelbaum C, Au WW: Combined genetic polymorphism and risk for development of lung cancer. *Mut. Res.* (1997), 381, 189-200
17. Garcia Closas M, Kelsey KT, Wiencke JK, Xu X, Wain JC, Christiani DC: A case control study of cytochrome P450 1A1, glutathione-S-transferase M1, cigarette smoking and lung cancer susceptibility. *Cancer Causes Control* (1997), 8: 544-553
18. Garte S, Gaspari L, Alexandrie AK, Ambrosone C, Autrup H, Autrup JL, Baranova H, Bathum L, Benhamou S, Boffetta P, Bouchardy C, Breskvar K, Brockmöller J, Cascorbi I, Clapper ML, Coutelle C, Daly A, Dell`Omo M, Dolzan V, Dresler CM, Fryer A, Haugen A, Hein DW, Hildesheim A, Hirvonen A, Hsieh L, Ingelman-Sundberg M, Kalina I, Kang D, Kihara M, Kiyohara C, Kremers P, Lazarus P, LeMarchand L, Lechner MC, Lieshout EMM, London S, Manni JJ, Maugard CM, Morita S, Nazar-Stewart V, Noda K, Oda Y, Parl FF, Pastorelli R, Persson I, Peters WHM, Rannug A, Rebbeck T, Risch A, Roelandt L, Romkes M, Ryberg D, Salagovic J, Schoket B, Seidegard J, Shields PG, Sim E, Sinnet D, Strange RC, Stücker I, Sugimura H, To-Figuera J, Vineis P, Yu MC, Taioli E: Metabolic gene polymorphism frequencies in control populations. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* (2001), 10, 1239-1248

19. Harries LW, Stubbins MJ, Forman D, Howard GCW, Wolf CR: Identification of genetic polymorphisms at the glutathione S-transferase PI locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer. *Carcinogenesis* (1997), 18: 641-644
20. Hayashi S, Watanabe J, Nakachi K, Kawajiri K: Genetic linkage of lung cancer-associated MspI polymorphisms with amino acid replacement in the heme binding region of the human cytochrome P450 1A1 gene. *J Biochem* (1991), 110: 407-411
21. Hayes JD, Pulford DJ: The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit Rev Biochem Mol Biol* (1995) 30: 445-600
22. Hessisches Schulgesetz, § 3 Absatz 9 Satz 3, vom 26.11.2004, in Kraft seit 1.1.2005. In GVBl I S.466, zuletzt geändert durch Gesetz vom 21.3.2005 GVBl I S.218
23. Hirschhorn JN, Lohmueller K, Hirschhorn K: A comprehensive review of genetic association studies. *Genet Med* (2002), 4: 45-61
24. Hirvonen A, Husgafvel Pursiainen K, Karjalainen A, Anttila S, Vainio H: Point-mutational MspI and Ile-Val polymorphisms closely linked in the CYP1A1 gene: lack of association with susceptibility to lung cancer in a Finnish study population. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* (1992) 1: 485-489
25. Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Anttila S, Vainio H: The GSTM1 null genotype as a potential risk modifier for squamous cell carcinoma of the lung. *Carcinogenesis* (1993), 14: 1479-1481
26. Hirvonen A, Saarikoski S, Linnainmaa K, Koskinen K, Husgafvel-Pursiainen K, Mattson K, Vainio H: Glutathione S-transferase and N-acetyltransferase genotypes and asbestos-associated pulmonary disorders. *J. Nat. Cancer Inst.* (1996), 88: 1853-1856
27. Hosen RS, Flanders WD, Sasco A: Bias in case control studies of screening effectiveness. *Am. J. Epidemiol.*(1996), 143, 2, 193-201
28. Houlston RS: CYP1A1 polymorphisms and lung cancer risk: a meta-analysis. *Pharmacogenetics* (2000), 10: 105-114
29. Hung RJ, Boffetta P, Brockmüller J, Butkiewicz Cascorbi I, Clapper ML, Garte S, Haugen A, Hirvonen A, Anttila S, Kalina I, LeMarchand L, London S, Rannug A, Romkes M, Salagovic J, Schoket B, Gaspari L, Taioli E: CYP1A1 and GSTM1 genetic polymorphisms and lung cancer risk in Caucasian non smokers: a pooled analysis. *Carcinogenesis* (2003), 24: 875-882

30. Idle JR, Armstrong M, Boddy AV, Boustead C, Cholerton S, Cooper J, Daly AK, Ellis J, Gregory W, Hadidi H, Höfer C, Holt J, Leathart J, McCracken N, Monkman SC, Painter JE, Taber H, Walker D, Yule M: The pharmacogenetics of chemical carcinogenesis. *Pharmacogenetics* (1992), 2: 246-258
31. Ingelman-Sundberg M, Oscarson M, Daly AK, Garte S, Nebert DW: Human cytochrome P-450 (CYP) genes: a web page for the nomenclature of alleles. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* (2001) 10: 1307-1308
32. Jacquet M, Lambert V, Baudoux E, Muller M, Kremers P, Gielen J: Correlation between P450 CYP1A1 inducibility, Msp1 genotype and lung cancer incidence. *Eur J Cancer* (1996), 32 : 1701-1706
33. Jakobsson K, Rannug A, Alexandrie AK, Rylander L, Albin M, Hagmar L: Genetic polymorphism for glutathione S-transferase mu in asbestos cement workers. *Occup. Environ. Med.* (1994), 51 : 812-816
34. Jourenkova-Mironova N, Wikman H, Bouchardy C, Voho A, Dayer P, Benhamou S, Hirvonen A : Role of glutathione S-transferase GSTM1, GSTM3, GSTP1 and GSTT11 genotypes in modulating susceptibility to smoking related lung cancer. *Pharmacogenetics* (1998), 8: 495-502
35. Kawajiri K, Nakachi K, Imai K, Yoshii A, Shinoda N, Watanabe J: Identification of genetically high risk individuals to lung cancer by DNA polymorphisms of the cytochrome P450 1A1 gene. *FEBS* (1990), 263: 131-133
36. Kelsey KT, Wiencke JK, Xu X, Wain JC, Christiani DC: A case-control study of cytochrome P450 1A1, glutathione S-transferase M1, cigarette smoking and lung cancer susceptibility. *Cancer Causes Control* (1997), 8: 544-553
37. Kihara M, Noda K: Lung cancer risk of GSTM1 null genotype is dependent on the extent of tobacco smoke exposure. *Carcinogenesis* (1994), 15, 415-418
38. Le Marchand L, Sivaraman L, Pierce L, Seifried A, Lum A, Wilkens LR, Lau AF: Associations of CYP1A1, GSTM1 and CYP2E1 polymorphisms with lung cancer suggest cell type specificities to tobacco carcinogens. *Cancer research* (1998), 58: 4858-4863
39. Lewis SJ, Cherry NM, Niven RM, Barber PV, Povey AC: GSTM1, GSTT11 and GSTP1 polymorphisms and lung cancer risk. *Cancer Lett* (2002), 180: 165-171
40. London SJ, Daly AK, Cooper J, Navidi WC, Carpenter CL, Idle JR: Polymorphism of glutathione S-transferase M1 and lung cancer risk among African-Americans and Caucasians in Los Angeles, California. *J Natl Cancer Inst* (1995), 87: 1246-1253

41. Malats N, Camus-Radon AM, Nyberg F, Ahrens W, Constantinescu V, Mukeria A, Benhamou S, Batura-Gabryel H, Bruske-Hohlfeld I, Simonato L, Menezes A, Lea S, Lang M, Boffetta P: Lung cancer risk in nonsmokers and GSTM1 and GSTT11 genetic polymorphism. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* (2000), 9: 827-833
42. Mannervik B, Awasthi YC, Board PG, Hajes JD, Di Ilio C, Ketterer B, Listowsky I, Morgenstern R, et al.: Nomenclature for human glutathione transferases. *Biochem J* (1992), 282: 305-306
43. Mannervik B, Danielson UH: Glutathione transferases – structure and catalytic activity. *Crit Rev Biochem* (1988) 23: 283-334
44. Mason TJ: The descriptive epidemiology of lung cancer. In: Samet JM (Hrsg.): *Epidemiology of lung cancer*. Marcel Dekker, New York, Basel, Hong Kong (1994), 51-69
45. Miller CW, Simon K, Aslo A, Kok K, Yokota J, Buys CH, Terada M, Koeffler HP: p53 mutations in human lung tumors. *Cancer Res* (1992) 52: 1695-1698
46. Miller DP, Liu G, De Vivo I, Lynch TJ, Wain JC, Su L, Christiani DC: Combinations of GSTP1, GSTM1, and p53 are associated with an increased lung cancer risk. *Cancer Res* (2002) 62: 2819-2823
47. Miller DP, Neuberger D, De Vivo I, Wain JC, Lynch TJ, Su L, Christiani DC: Smoking and the risk of lung cancer, susceptibility with GSTP1 polymorphisms. *Epidemiology* (2003), 14: 545-551
48. Miller MS, McCarver DG, Bell DA, Eaton DL, Goldstein JA: Genetic polymorphisms in human drug metabolic enzymes. *Fundam Appl Toxicol* (1997) 68: 2074-2078
49. Müller-Höcker J: Pathomorphologie und Molekulargenetik des Lungenkarzinoms. *Manual Tumoren der Lunge und des Mediastinums*, 5. Auflage, S. 30-41. München: Zuckschwerdt (2000)
50. Nakachi K, Imai K, Hayashi S, Kawajiri K: Polymorphisms of the CYP1a1 and glutathione S-transferases genes associated with susceptibility of lung cancer in relation to cigarette dose in a Japanese population. *Cancer Res* (1993), 53, 2994-2999
51. Nelson HH, Wiencke JK, Christiani DC, Cheng TJ, Zuo ZF, Schwartz BS, Lee BK, Spitz MR, Wang M, Xu X, Kelsey KT: Ethnic differences in the prevalence of the homozygous deleted genotype of glutathione S-transferase theta. *Carcinogenesis* (1995), 16, 1243-1245
52. Nowak D: Bronchialkarzinom durch genetische und Umweltfaktoren: Genetische Faktoren. *Pneumologie* (1994), 48, 526-528

53. Nyberg F, Hou SM, Hemminki K, et al.: Glutathione S-transferase mu 1 and NAT2 genetic polymorphisms and exposure to tobacco smoke in nonsmoking and smoking lung cancer patients and population controls. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* (1998), 7, 875-883
54. Oesch F: Fremdstoffmetabolismus. Marquardt H, Schäfer S (Hrsg.): *Lehrbuch der Toxikologie.* Mannheim, Leipzig, Wien, Zürich: BI Wissenschaftsverlag (1994), 68-93
55. Omura T: Forty years of cytochrome P450. *Biochem Biophys Res Commun* (1999), 29, 690-698
56. Pemble S, Schroeder KR, Spencer SR, Meyer DJ, Hallier E, Bolt HM, Ketterer B, Taylor JB: Human glutathione S-transferase theta (GSTT11): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochem J* (1994), 300, 271-276
57. Pemble SE, Wardle AF, Taylor JB: Glutathione S-transferase class kappa: characterization by the cloning of rat mitochondrial GST and identification of a human homologue. *Biochem J* (1996), 319, 749-754
58. Raimondi S, Boffetta P, Anttila S, Brockmüller J, Butkiewicz D, Cascorbi I, Clapper ML, Dragani TA, Garte S, Gsur A: Metabolic gene polymorphisms and lung cancer risk in non-smokers. An update of the GSEC study. *Mut Res* (2005), 592, 45-57
59. Rebbeck TR: Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT11 in cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* (1997), 6, 733-743
60. Rüdiger HW, Nowak D: Bronchialkarzinom: Die Rolle von Anlage und Umwelt. *Internist* (1994), 35, 700-709
61. Ryberg D, Skaug V, Hewer A, Phillips DH, Harries LW, Wolf CR, Ogreid D, Alvik A, Vu P, Haugen A: Genotypes of glutathione transferase M1 and P1 and their significance for DNA adduct levels and cancer risk. *Carcinogenesis* (1997), 18, 1285-1289
62. Saarikoski ST, Voho A, Reinikainen M, Anttila S, Karjalainen A, Malaveille C, Vainio H, Husgafvel-Pursiainen K, Hirvonen A: Combined effect of polymorphic GST genes on individual susceptibility to lung cancer. *Int J Cancer* (1998) 77, 516-521
63. Samet JM: The epidemiology of lung cancer. *Chest* (1993), 103(Suppl 1), 20-29
64. Schmähl D: Zur Ätiologie des Bronchialkarzinoms. *Pneumologie* (1991), 45, 134-136

65. Schneider J, Bernges U, Philipp M, Woitowitz HJ: CYP1A1 and CYP1B1 polymorphism and lung cancer risk in relation to tobacco smoking. *Cancer Genomics Proteomics* (2004), 1, 189-198
66. Schneider J, Bernges U, Philipp M, Woitowitz HJ: GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphism and lung cancer risk in relation to tobacco smoking. *Cancer letters* (2004), 208, 65-74
67. Schneider J, Woitowitz H-J: Zeitdeterminanten asbestverursachter Tumoren der Lunge, des Rippenfells und des Bauchfells im berufsspezifischen Vergleich. 36. Jahrestagung der Dtsch. Ge. Arbeitsmedizin, Rindt-Druck, Fulda (1996): 423-429
68. Schottenfeld D: Epidemiology of lung cancer. In: Pass HI, Mitchell JB, Johnson DH, Turrisi AT (Hrsg.): *Lung cancer: Principles and practice*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers (1996), 305-321
69. Schuermann M: Zytogenetische und molekularbiologische Grundlagen in der Entwicklung des nichtkleinzelligen Bronchialkarzinoms. *Onkologie* (1995), 1, 424-428
70. Schwarz M, Bock KW: Mechanismen der Entstehung fremdstoffbedingter Krebsformen. In: Ganten D, Ruckpaul K (Hrsg.): *Tumorerkrankungen*. Heidelberg: Springer (1998), 27-49
71. Seidegård J, Vorachek WR, Pero RW, Pearson WR: Hereditary differences in the expression of the human glutathione active on trans-stilbene oxide are due to a gene deletion. *Proc Natl Acad Sci USA* (1988), 85, 7293-7297
72. Shields PG, Caporaso NE, Falk RT, Sugimura H, Trivers GE, Trump BF, Hoover RN, Weston A, Harris CC: Lung cancer, race and a CYP1A1 genetic polymorphism. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* (1993), 2, 481-485
73. Shields PG, Harries CC: Molecular epidemiology and the genetics of environmental cancer. *J.Am.Med.Assoc.* (1991), 266, 681-687
74. Smith CM, Kelsey KT, Wiencke JK, Leyden K, Levin S, Christiani DC: Inherited glutathione S-transferase deficiency is a risk factor for pulmonary asbestosis. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* (1994), 3, 471-477
75. Spitz MR, Duphorne CM, Detry MA, Pillow PC, Amos CI, Lei L, de Andrade M, Gu X, Hong WK, Wu X: Dietary intake of isothiocyanates: Evidence of a joint effect with glutathione S-transferase polymorphisms in lung cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* (2000) 9, 1017-1020

76. Spurr NK, Gough AC, Stevenson K, Wolf CR: Msp1-polymorphism detected with a cDNA probe for the P-450 1 family on chromosome 15. *Nucleic Acids Res* (1987), 15, 5901
77. Statistisches Bundesamt, Todesursachenstatistik, 2006
78. Stoilov I, Akarsu AN, Sarfarazi M: Identification of three different truncating mutations in cytochrome P450 1B1 (CYP 1B1) as the principal cause of primary congenital glaucoma (Buphthalmos) in families linked to the GLC3A locus on chromosome 2p21. *Hum Molec Genet* (1997), 6, 641-647
79. Stücker I, Boffetta P, Antilla S, Benhamou S, Hirvonen A, London S, Taioli E: Lack of interaction between asbestos exposure and glutathione S-transferase M1 and T1 genotypes in lung carcinogenesis. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* (2001), 10, 1253-1258
80. Stücker I, de Waziers I, Cenee S, Bignon J, Depierre A, Milleron B, Beaune P, Hemon D: GSTM1, smoking and lung cancer: a case-control study. *Int J Epidem* (1999), 28, 829-835
81. Stücker I, Hirvonen A, de Waziers I, Cabelguenne A, Mitrunen K, Cenee S, Koumbesson E, Hemon D, Beaune P, Loriot MA: Genetic polymorphisms of glutathione S-transferase as modulators of lung cancer susceptibility. *Carcinogenesis* (2002), 23, 1475-1481
82. Thun MJ, Lally CA, Flannery JT, Calle EE, Flanders WD, Heath CW: Cigarette smoking and changes in the histopathology of lung cancer. *J Natl Cancer Inst* (1997), 89, 1580-1586
83. To-Figueras J, Gene M, Gomez-Catalan J, Galan MC, Fuentes M, Ramon JM, Rodamilans M, Huguet E, Corbella J: Glutathione S-transferase M1 (GSTM) and T1 (GSTT1) polymorphisms and lung cancer risk among Northwestern Mediterraneans. *Carcinogenesis* (1997), 18, 1529-1533
84. To-Figueras J, Gene M, Gomez-Catalan J, Gene M, Gomez-Catalan J, Galan C, Firvida J, Fuentes M, Rodamilans M, Huguet E, Estape J, Corbella J: Glutathione-S-transferase M1 and codon 72 p53 polymorphisms in a northwestern Mediteranean population and their relation to lung cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* (1996), 5, 337-342
85. To-Figueras J, Gene M, Gomez-Catalan J, Pique E, Natividad B, Lluís Carrasco J, Ramon J, Corbella J: Genetic polymorphism of glutathione S-transferase P1 gene and lung cancer risk. *Cancer Causes Control* (1999), 10, 65-70

86. Vineis P, Veglia F, Benhamou S, Butkiewicz D, Clapper ML, Dolzan V, Haugen A, Hein DW, Hirvonen A, Ingelman-Sundberg M, Kihara M, Kiyohara C, Kremers P, LeMarchand L, Ohshima S, Rannug A, Romkes M, Schoket B, Shields PG, Strange RC, Stücker I, Sugimura H, Stücker I, Sugimura H, Garte S, Gaspari L, Taioli E: CYP1A1 T3801C polymorphism and lung cancer: a pooled analysis of 2451 cases and 3358 controls. *Int J Cancer* (2003), 104, 650-657
87. Weißflog D, Matthys H, Hasse J, Virchow JC: Epidemiologie und Kosten des Bronchialkarzinoms in Deutschland. *Pneumologie* (2001), 333-338
88. Welfare M, Adekun AM, Bassendine MF, Daly AK : Polymorphisms in GSTP1, GSTM1 and GSTT11 and susceptibility to colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* (1999), 8, 289-292
89. Widersten M, Pearson WR, Engstrom A, Mannervik B: Heterologous expression of the allelic variant mu-class glutathione transferases mu and psi. *Biochem J* (1991), 276, 519-524
90. Wilce MCJ, Parker MW: Structure and function of glutathione S-transferases. *Biochem Biophys Acta* (1994), 1205, 1-18
91. Woitowitz HJ: Bronchus- und Pleuratumoren durch Arbeitsstoffe. Konietzko N, Costabel U, Bauer PC (Hrsg.): *Lunge und Arbeitswelt*. Heidelberg, München: Springer-Verlag (1990), 1-8
92. Woitowitz HJ: Lungenerkrankungen durch Noxen der Arbeitsumwelt. In: *Medizinische Welt* (1989) 40: 1383-1387
93. Woitowitz HJ: Lungenkrebs und Arbeitsumwelt. *Münch. Med. Wschr.* (1987) 129, 559-561
94. Woodson K, Stewart C, Barrett M, Bhat NK, Virtamo J, Taylor PR, Albanes D: Effect of vitamin intervention on the relationship between GSTM1, smoking, and lung cancer risk among male smokers. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* (1999), 8, 965-970
95. Xu X, Kelsey KT, Wiencke JK, Xu X, Wain JC, Christiani DC : Cytochrome P450 CYP1A1 Msp1 polymorphism and lung cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* (1996), 5, 687-692

Danksagung

Ich bedanke mich ganz besonders bei meinem Betreuer PD Dr. med. Joachim Schneider für die Überlassung des Dissertationsthemas und die stetige und konsequente Unterstützung.

Monika Philipp danke ich für die umfangreiche Hilfe bei den Laborarbeiten und die stets freundschaftliche Atmosphäre.

Meinen Eltern und Rudi Voigtländer danke ich für die vorbehaltlose Unterstützung während meines Studiums.

Für den zu Tag- und Nachtzeiten erreichbaren Computer-Support danke ich meinen Brüdern Ernst und Matthias.

Schließlich gilt ein tierisches Danke Wummel, Milli, Karla und Gimli für viel amüsante Ablenkung!

Ulrike Bernges *28.02.1979 in Mainz

Persönliche Angaben	Anschrift	Jakob-Nold-Str. 7 64521 Groß-Gerau
	Telefon e-mail	06152 7219 ulrikebernges@gmx.de
	Familienstand ledig	
Ausbildung	1998	Schulabschluss: Allg. Hochschulreife
	April 1999 - April 2004	Studium der Humanmedizin an der Justus-Liebig-Universität Gießen
	April 2004 - April 2005	Studium der Humanmedizin an der Julius-Maximilian-Universität Würzburg
	März 2002 April 2004	Erstes Staatsexamen, Note befriedigend (3) Zweites Staatsexamen, Note gut (1,66)
	April 2004- März 2005	Praktisches Jahr: Innere Medizin am Lehrkrankenhaus der Universität Gießen in Lich Pädiatrie am Lehrkrankenhaus der Universität Gießen in Bad Hersfeld Chirurgie am Lehrkrankenhaus der Universität Würzburg, Juliusspital
	April 2005	Drittes Staatsexamen, Note gut (2) Gesamtnote Ärztliche Prüfung: gut (1,99)
Anstellung	seit Sept. 2005	Assistenzärztin am Klinikum Ludwigsburg, Medizinische Klinik II, Kardiologie und Nephrologie
Sonstige Tätigkeiten	1994 – 2005	Kinder- u. Jugendtraining Speedskating im Sportverein BG Groß-Gerau
	1999 – 2003	Durchführung der Inline-Skating-Kurse des Allg. Hochschulsports der JLU Gießen
	1999 – 2003	Aushilfstätigkeit im Pflegedienst Brüderkrankenhaus Gießen
	2001 – 2005	Referentin und Kursleiterin bei der Sportjugend Hessen
	2004	Lehrtätigkeit an der Pflegeschule Bad Hersfeld
Interessen		Triathlon, Speedskating, Radfahren, Gesellschaftsspiele

Eidesstattliche Erklärung

„Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

Groß-Gerau, 22. April 2006

Ulrike Bernges