

Aus dem Institut für Pathologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Prof. Dr. H.E. Gabbert

*„Adenokarzinom des Magens und C609T Polymorphismus des NAD(P)H-
Oxidoreduktase-Gens sowie C677T Polymorphismus der Methylentetrahydrofolat-
Reduktase-Gens: Bedeutung für die Tumordisposition?“*

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Yasemin Kandemir

geboren in Neuss

Düsseldorf 2010

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf

Dekan

Referent: Prof. Dr. Sarbia

Korreferent: Prof. Dr. Grabitz

*Gott
und meinen Eltern Yurdagül und Nizamettin
in ewiger Liebe und Dankbarkeit...*

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis.....	III
1. Einleitung	4
1.1 Epidemiologie des Magenkarzinoms.....	5
1.2 Präkanzeröse Konditionen:	6
1.3 Histologie.....	6
1.4 Klinik, Diagnostik, Therapie	7
1.5 5-,10-Methylentetrahydrofolat-Reduktase (MTHFR; EC 1.5.1.20).....	8
1.6 NAD(P)H-Oxidoreduktase (NQO1; EC 1.6.99.2).....	10
2. Aufgabenstellung.....	12
3. Material und Methoden.....	13
3.1 Patientenkollektiv	13
3.2 Kontrollgruppe.....	13
3.3 Molekulargenetische Untersuchungen.....	15
3.3.1 DNA-Präparation	15
3.3.2 Polymerase-Kettenreaktion(PCR)	16
3.3.3 Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP)	18
3.3.4 Agarose-Gelelektrophorese	19
3.5 Puffer und Lösungen	21
3.6 Enzyme	21
3.7 Verwendete Primer	22
3.8 DNA-Längenstandard.....	22
3.9 Geräte/sonstige Materialien	23
3.10 Statistik	24
4. Ergebnisse	25
4.1 NAD(P)H-Oxidoreduktase	25
4.2 MTHFR.....	26
5. Diskussion	27
5.1 NQO1.....	30
5.2 MTHFR.....	31

6. Zusammenfassung	33
Literaturverzeichnis	34
8. Anhang.....	V
8.1 Lebenslauf.....	V
8.2 Danksagung	VII

Abkürzungsverzeichnis

A	Adenin
a.d	aqua dest
Bp	Basenpaare
C	Cytosin
D	desoxy
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	2-desoxyribonukleosid-5-Triphosphat
dTMP	deoxythymidin-Monophosphat
G	Guanin
HE	Hämatoxylin-Eosin
kB	Kilobasenpaare, Größenangabe für 1000 bp DNA oder RNA
kDa	Kilodalton, Massenangabe für Proteine
µl	Mikroliter
mM	Millimolar
MTHFR	Methylentetrahydrofolat-Reduktase
MS	Methionin-Synthase
mV	Millivolt
NQO1	NAD(P)H-Oxidoreduktase
P	Bezeichnung für den kurzen Arm eines Chromosoms (bitte noch mal prüfen; ich glaube p steht für petit, d.h. den kurzen Arm)
PCR	Polymerase chain reaction
pH	potentium hydrogenii
q	Bezeichnung für den langen Arm eines Chromosoms
T	Thymin
Taq	thermophilus aquaticus
TBE	Tris-Borsäure-EDTA
THF	Tetrahydrofolat
Tris	Tris-Hydroxymethyl-Aminomethan

1. Einleitung

Maligne Erkrankungen stellen, nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Infektionen, die dritthäufigste Todesursache weltweit dar (World Health Organisation, WHO 2005). In Deutschland und in anderen westlichen Ländern nehmen bösartige Erkrankungen, nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen, den zweiten Rang in der Todesursachenstatistik (Statistisches Bundesamt 2003) ein. Jährlich sterben weltweit ca. 7 Mio. Menschen an malignen Erkrankungen (WHO 2005). Allein in Deutschland erkranken pro Jahr ca. 350.000 Menschen an Krebs (Lang et al. 2002).

Die Einteilung der Tumore erfolgt nach Gewebe und Zelltypen, aus denen sie hervorgehen. So bezeichnet man bösartige Tumore, die aus Epithelzellen entstehen, als Karzinome. Sarkome sind bösartige Entartungen der Muskelzellen und des Bindegewebes. Ferner können Tumore, Leukämien und Lymphome, aus Zellen des blutbildenden Systems, des Knochenmarks und der Lymphknoten hervorgehen (Hanahan et Weinberg 2000).

Bei der Krebsentstehung kommt es zu einer unkontrollierten Proliferation von Körperzellen. Die meisten Tumore entstehen in einem mehrstufigen Prozess durch Akkumulation multipler Mutationen in verschiedenen Genen (Fearon et Vogelstein 1990, Hanahan et Weinberg 2000). Diese Mutationen entstehen meist in Genen, die die Zellproliferation beeinflussen. Es kommt zu einer Aktivierung wachstumstimulierender Protoonkogene, Inaktivierung wachstumshemmender Tumorsuppressorgene oder Inaktivierung der DNA-Reparaturgene (Fearon et Vogelstein 1990). Für die Entstehung von Malignomen werden exogene Einflüsse, wie physikalische Strahlen, Chemikalien, Viren und eine genetische Disposition diskutiert.

Zu den häufigsten krebsbedingten Todesursachen bei beiden Geschlechtern gehören weltweit das Lungenkarzinom, das kolorektale Karzinom und das Magenkarzinom. Bei Frauen treten hauptsächlich Brustkrebs und Zervix-

Karzinome auf, während bei Männern Lungenkrebs und Magenkrebs häufiger auftreten (WHO 2005).

1.1 Epidemiologie des Magenkarzinoms

Das Magenkarzinom ist weltweit die zweithäufigste zum Tode führende Krebserkrankung mit starken regionalen Unterschieden. Man findet eine erhöhte Erkrankungshäufigkeit vor allem in Japan, China, Finnland, Kolumbien und Venezuela. Die höchste Inzidenz findet man in Japan, mit 78 Männern und 33 Frauen pro 100.000 Einwohnern (Parkin et al. 1999).

Die Erkrankungshäufigkeit hat in Europa seit den 70er Jahren um mehr als 50% abgenommen (Robert Koch Institut 2004) und beträgt in Europa sowie den USA derzeit 12-15 Patienten pro 100.000 Einwohner (Terry et al 2002). Die Erkrankung manifestiert sich selten vor dem 40. Lebensjahr, steigt aber nach dem 70. Lebensjahr stetig an (Fuchs et al. 1995). Der Erkrankungsgipfel liegt für beide Geschlechter jenseits des 50. Lebensjahres (Wayman et al. 2001), wobei das männliche Geschlecht mit einem Verhältnis von 2:1 häufiger betroffen ist (Fuchs et al. 1995).

Die abnehmende Inzidenz ist auf die verbesserten Lebens- und Ernährungsbedingungen zurückzuführen, wie ein höherer sozioökonomischer Status und der Genuss von frischen und vitaminhaltigen Nahrungsmitteln (Risch et al. 1985, Nomura et al. 1990, Demirer et al. 1990). Weiterhin ist die gezielte Therapie des *Helicobacter pylori*, welches von der WHO als Karzinogen erster Ordnung eingestuft wird (International Agency for Research on Cancer, IARC 1994), ebenfalls wahrscheinlich für den Rückgang des Magenkarzinoms verantwortlich. Als Risikofaktoren für die Tumorentstehung sind, wie bereits oben erwähnt, eine Infektion mit *Helicobacter pylori* (Parsonnet et al. 1991), ein hoher Nitratgehalt in der Nahrung, zum Beispiel in gesalzenen und geräucherten Speisen (Mirvish 1983, Correa 1992), Nikotinkonsum (Nomura et al. 1990, Hoshiyama et al. 1992, Kneller et al. 1992, Kabat et al. 1993, Hansson et al. 1994), familiäre

Disposition (Zanghieri et al. 1990, La Vecchia et al. 1992), ein höheres Lebensalter (Fuchs et al. 1995) und die Blutgruppe A (Haenzel et al. 1976) angesehen.

1.2 Präkanzeröse Konditionen:

Untersuchungen der Magenresektate nach einer chirurgischen Entfernung oder Autopsie haben ergeben, dass Magenkarzinome gehäuft mit anderen Veränderungen einhergehen. Zu diesen abnormalen Konditionen zählen z.B. atrophische Gastritis (Fuchs et al. 1995), intestinale Metaplasie (Fuchs et al. 1995), perniziöse Anämie (Brinton et al. 1989, Hsing et al. 1993), Morbus Ménétrier (Matzner et al. 1951) und adenomatöse Polypen des Magens (Nakamura et al. 1985). Ferner besteht 15-20 Jahre nach einer Magenteilresektion ein erhöhtes Risiko für ein Magenstumpfkarcinom (Stalnikowicz et al. 1990, Tersmette et al. 1990).

1.3 Histologie

Weit mehr als 90% der Magenkarzinome sind histologisch Adenokarzinome, während andere histologische Typen, wie das kleinzellige Karzinom und das Plattenepithelkarzinom sehr selten sind (Fuchs et al. 1995).

Nach der WHO erfolgt die histologische Typisierung in:

- papilläres Adenokarzinom
- tubuläres Adenokarzinom
- muzinöses Adenokarzinom
- Siegelringkarzinom
- adenosquamöses Karzinom
- kleinzelliges Karzinom
- undifferenziertes Karzinom

Die Adenokarzinome des Magens können nach Lauren in einen intestinalen Typ (kohärente Zellstränge, die tubulusähnliche Strukturen bilden) und einen diffusen Typ (diffus die Magenwand infiltrierend) unterschieden werden (Lauren 1965). Die Einteilung ist für das Ausmaß des Resektionsverfahrens von Bedeutung (Hohenberger et Gretscher 2003). Der intestinale Typ kommt vor allem im distalen Abschnitt des Magens vor und betrifft vor allem ältere Menschen, während der diffuse Typ auch bei jüngeren Menschen vorkommt und im gesamten Magen auftreten kann und mit einer schlechteren Prognose assoziiert ist (La Vecchia et al. 1992).

1.4 Klinik, Diagnostik, Therapie

In frühen Stadien und bei oberflächlicher Ausdehnung zeigt das Magenkarzinom keine typischen Symptome. Deswegen ist bei der Diagnosestellung die Erkrankung häufig lokal weit fortgeschritten oder bereits metastasiert.

Die klinischen Zeichen sind sehr unspezifisch und können als Gewichtsverlust, Abneigung gegen Fleisch, epigastrische Schmerzen, Eisenmangelanämie, Erbrechen, Völlegefühl oder als Schluckstörungen in Erscheinung treten. Die Diagnose wird durch Gastroskopie mit Biopsieentnahme und histologischer Begutachtung sowie durch Endosonografie gestellt. Das Magenkarzinom breitet sich entweder direkt in das umgebende perigastrische Gewebe oder in die Nachbarorgane aus, wie zum Beispiel in Pankreas, Leber oder Kolon, oder metastasiert lymphogen in die abdominellen oder supraklavikulären Lymphknoten (Virchow-Drüse).

Die therapeutischen Ansätze stützen sich auf die chirurgische Resektion des Tumors mit den dazugehörigen Lymphknoten und eventuell auf eine anschließende Radio-Chemotherapie.

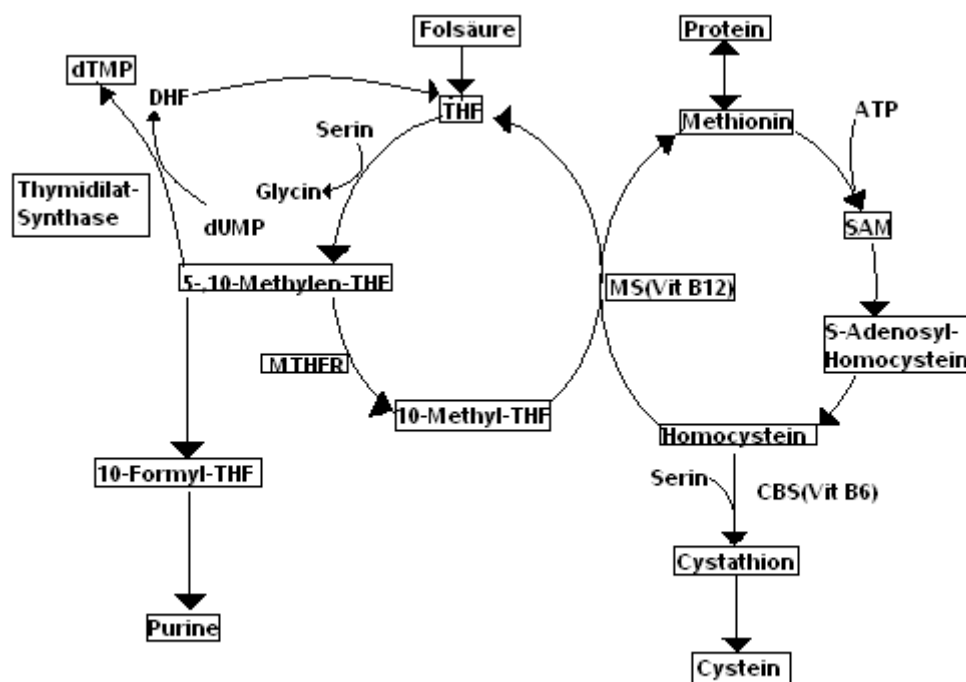
1.5 5-,10-Methylenetetrahydrofolat-Reduktase (MTHFR; EC 1.5.1.20)

In den letzten Jahren haben eine Reihe von epidemiologischen Studien gezeigt, dass ein verminderter Verzehr von Obst und Gemüse das Risiko für die Entstehung einiger Krebsarten, wie z.B. Karzinome des oberen Gastrointestinaltraktes, begünstigen können (Hamilton et Aaltonen 2000, Mayne et al. 2001). Einige Bestandteile, die in Obst und Gemüse enthalten sind, scheinen einen schützenden Effekt auf die Karzinogenese auszuüben. Ein solcher Bestandteil ist die Folsäure (reduzierte Derivate = Folate), ein wasserlösliches Vitamin. Die Folsäure übt als Träger von Methyl- und Formylgruppen eine Schlüsselfunktion bei der DNA-Synthese und im C1-Stoffwechsel aus (Kim et al. 2000). Die Funktion der Folsäure wird erst durch die Reduktion zu Tetrahydrofolat erlangt und anschließend in den Metabolismus eingeschleust. Der Mangel an Folat scheint bei der alkoholisch induzierten Karzinogenese eine wichtige Rolle zu spielen (Halsted 1995).

Die 5-,10- *Methylenetetrahydrofolat-Reduktase*, ein zytosolisches Enzym, spielt eine zentrale Rolle im Folatzyklus (Wagner et al 1995). Sie katalysiert die Reduktion von 5-,10-Methylenetetrahydrofolat zu 5-Methylenetetrahydrofolat, welches die Methylgruppe für die von der Methyltransferase (MTR oder MS) katalysierten Remethylierung von Homocystein zu Methionin bereitstellt. Das entstandene Methionin ist notwendig für die Proteinbiosynthese. In seinem aktivierten Zustand als S-Adenosyl-Methionin (SAM) ist er als wichtigster Methyl donor an zahlreichen Methylierungsreaktionen im Stoffwechsel beteiligt (DNA-Synthese, DNA-Methylierung, RNA-Synthese, Proteinbiosynthese, Phospholipid- und Hormonsynthese), (Scott et Weir 1998). Die *MTHFR* ist außerdem als Kohlenstoff-Donator an der Bildung von Thymidilat (über Thymidilatsynthase) und an der Purinsynthese (Adenin und Guanin), welches ebenfalls für die DNA- und RNA-Synthese essentiell ist, beteiligt (La Vecchia 1991, Choi et Mason 2000). Somit könnte ein Defekt im *Methylenetetrahydrofolat-Reduktase* sowohl die DNA-Synthese, als auch die DNA-Methylierung beeinflussen (Ullrich et al.1999).

Das Genprodukt für die *MTHFR* liegt auf dem kurzen Arm des Chromosom 1 (1p36.3), (Goyette et al. 1994). Die häufigste Sequenzvariante des *MTHFR*-Gens ist ein Basenaustausch von Cytosin (C) nach Thymin (T) an der Position 677, das zu einer Substitution von Alanin zu Valin führt. Folge ist ein thermolabiles Enzym mit herabgesetzter Enzymaktivität (Frosst et al. 1995). Dabei zeigen Individuen mit einem *MTHFR* TT Genotyp eine Enzymaktivität von 30%. Die heterozygote (677CT) Mutation zeigt eine Enzymaktivität von 65% des homozygoten *MTHFR* CC-Wildtyps an (Levi et al. 1998). Die herabgesetzte Enzymaktivität bedingt einen erhöhten Homocystein- und einen niedrigen Folat Spiegel im Plasma (Choi et Mason 2000).

Abb.1 Stoffwechselwege des Folsäuremetabolismus



Quelle: In Anlehnung an Bailey et al.1999 (vereinfachte Darstellung).

Abkürzungen: THF, Tetrahydrofolat; *MTHFR*, Methylentetrahydrofolat-Reduktase; MS, Methionin-Synthase; SAM, S-Adenosyl-Methionin; CBS, Cystathion-β-Synthase; DHF, Dihydrofolsäure; dUMP, deoxyuridin Monophosphat; dTMP, Deoxythymidin Monophosphat

1.6 *NAD(P)H-Oxidoreduktase (NQO1; EC 1.6.99.2)*

Die *NAD(P)H-Oxidoreduktase* ist ein Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD) enthaltendes zytosolisches Enzym, das die Reduktion von Chinonkomponenten zu Hydrochinonen katalysiert (Ernster 1967, Iyanagi et al 1970). Dadurch wird die Bildung von freien Radikalen und Sauerstoffradikalen, die unter physiologischen Bedingungen im oxidativen Stoffwechsel intrazellulär und extrazellulär gebildet werden, verhindert und die Zelle somit vor einem oxidativen Schaden bewahrt. Bei einer Überproduktion von freien Radikalen wird die Kapazität körpereigener antioxidativer Mechanismen überschritten, so dass es zu einer Oxidation biologischer Moleküle, wie zum Beispiel der DNA oder von Proteinen kommt (Davis et Goldberg 1987, Ames 1989).

Die *NAD(P)H-Oxidoreduktase* besteht aus zwei identischen Untereinheiten, jeweils mit einer Länge von 273 Aminosäuren (Robertson et al. 1986, Jaiswal et al. 1988). Jede Untereinheit besitzt ein FAD-Molekül als prosthetische Gruppe und ist durch eine nichtkovalente Bindung an das Protein gebunden (Chen et al. 1994). Das Genprodukt liegt auf Chromosom 16q22, hat eine Gesamtlänge von 20kB und enthält sechs Exons und fünf Introns (Jaiswal et al. 1991).

Der häufigste Polymorphismus ist ein Basenaustausch von Cytosin nach Thymin an Position 609, welches zu einem Austausch der Aminosäure Prolin an der Stelle 187 durch Serin führt. Dies bedingt eine Instabilität und eine verminderte Enzymaktivität (Traver et al. 1992). Dabei zeigt der Wildtyp eine normale Enzymaktivität. Der Heterozygote hat eine Enzymaktivität zu einem Drittel und der Homozygote zeigt keine Enzymaktivität an (Zhang et al 2003).

Die Häufigkeit der T/T Polymorphismen zeigt unter anderem signifikante ethnische Unterschiede, so verzeichnet man verminderte Enzymaktivitäten vor allem bei der asiatischen und südamerikanischen Bevölkerung (Kelsey et al. 1997, Wiencke et al. 1997).

Die *NAD(P)H-Oxidoreduktase* katalysiert eine Reihe von Reaktionen und schützt die Zellen und das Gewebe vor mutagenen, karzinogenen und zytotoxischen Bestandteilen der Chinone, die ubiquitär vorkommen können (Chen et al. 1994). Die *NQO1* fungiert außerdem als Antioxidant, in dem es oxidiertes Ubichinon und das Vitamin E in die reduzierten Formen regeneriert (Ross et al. 2000, Sarbia et al. 2003). Das Enzym ist außerdem an der Bioaktivierung der zytotoxischen Antitumor-Chinone, wie z.B. des Mitomycin C, der Anthrazykline und der Aziridyl-Benzochinone, beteiligt (Siegel et al. 1990, Chen et al. 1994).

2. Aufgabenstellung

Aufgrund seiner Heterogenität gehört das Magenkarzinom zu den interessanten Modellen um die Karzinogenese zu erforschen. In den letzten Jahren wurden eine Reihe von genetischen Alterationen mit der Entstehung einer malignen Transformation der Magenschleimhaut in Zusammenhang gebracht.

Die derzeit schlechte Prognose des Magenkarzinoms ist vor allem darauf zurückzuführen, dass die Erkrankung erst bei fortgeschrittenem Tumorwachstum zu Symptomen führt und daher häufig in einem Stadium diagnostiziert wird, in dem eine kurative Therapie nicht mehr möglich ist. Ein frühes Diagnostizieren des Magenkarzinoms ist daher ausschlaggebend für eine erfolgreiche Behandlung. Präventiv könnte man regelmäßige endoskopische Screeninguntersuchungen bei asymptomatischen Patienten mit erhöhtem Karzinomrisiko durchführen. Die bislang definierten präkanzerösen Läsionen des Magenkarzinoms sind jedoch nicht ausreichend für die Identifikation von Hochrisikopatienten, die Screeninguntersuchungen zuzuführen wären, sodass die Etablierung neuer exogener oder endogener Risikofaktoren wünschenswert ist.

In der vorliegenden Arbeit sind wir der Frage nachgegangen, ob die Polymorphismen der *NAD(P)H-Oxidoreduktase* und der *Methylentetrahydrofolat-Reduktase* zu einem erhöhten Risiko für die Entstehung eines Adenokarzinoms des Magens beitragen.

Im positiven Falle könnten einfache Blutuntersuchungen gemeinsam mit bereits bekannten Risikofaktoren helfen, diejenigen Patienten zu identifizieren, die von regelmäßigen endoskopischen Screeninguntersuchungen bzw. frühzeitigen therapeutischen Interventionen profitieren könnten.

3.Material und Methoden

3.1 Patientenkollektiv

In dieser Arbeit wurden retrospektiv Präparate von 213 Patienten (89 Frauen und 124 Männer) mit einem Adenokarzinom des Magens untersucht, die sich in der Zeit von 1984-2001 einer Gastrektomie oder einer Magenteilresektion in den medizinischen Einrichtungen der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf unterziehen mussten. Keiner der Patienten erhielt eine präoperative Chemo- oder Strahlentherapie. Das Durchschnittsalter lag bei 66 Jahren (Spannweite: 30 bis 90 Jahre). Histologisch wurden die Tumore nach der WHO- und Lauren-Klassifikation unterteilt. Die pT- und pN Einteilung erfolgte nach der TNM-Klassifikation der UICC von 2002.

3.2 Kontrollgruppe

Als Kontrollgruppe dienten 252 gesunde Blutspender, denen in der Zeit von 1995-2001 in den medizinischen Einrichtungen der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf Blut entnommen wurde und die keinerlei Medikamente eingenommen hatten.

Tabelle 1: Klinisch-pathologische Daten der Karzinompatienten und der Kontrollgruppe

	Karzinompatienten n=203; n (%)	Kontrolle n=252; n (%)
Geschlecht		
weiblich	87 (42,9)	59 (23,4)
männlich	116 (57,1)	193 (76,6)
Durchschnittsalter	66 (30-90)	39 (24-70)
pT Kategorie		
pT1	40 (19,7)	
pT2	84 (41,4)	
pT3	61 (30,0)	
pT4	18 (8,9)	
pN Kategorie		
pN0	63 (31,0)	
pN+	140 (69,0)	
Rauchgewohnheiten		
Nichtraucher	107 (62,6)	100 (40,7)
Ex-Raucher	3 (1,7)	32 (13,0)
Raucher	61 (35,7)	114 (46,3)
regelmäßiger Alkoholkonsum		
Nein	128 (74,8)	keine Angabe
früher	1 (0,6)	keine Angabe
Ja	42 (24,6)	keine Angabe

Quelle: Sarbia et al. 2003

3.3 Molekulargenetische Untersuchungen

3.3.1 DNA-Präparation

Zunächst wurde von jedem der 213 Resektate je ein Paraffinblock mit tumorfreiem Normalgewebe (z.B. aus Absetzungsrandern) ausgewählt, mit Hämatoxylin-Eosin (HE) gefärbt. Wenn die Präparate normale, tumorfreie Schleimhaut enthielten, wurden von diesen Paraffinblöcken jeweils 5x5 µm dicke Paraffinschnitte angefertigt, und in absteigender Alkoholreihe das Paraffin entfernt. Anschließend wurden die Gewebsanteile mit einem sterilen Skalpell vom Objektträger abgekratzt und in eine sterile Eppendorfftube mit 200 µl TE-Puffer (Tris EDTA) überführt. Das Gewebe wurde anschließend mit 20µl Proteinase K (25 mg/ml) über Nacht (16 h) bei 55°C im Thermoinkubator verdaut. Durch achtminütige Erhitzung auf 94° wurde schließlich die Proteinase K inaktiviert. Zwei µl dieser DNA-Präparation wurden ohne weitere Aufreinigung für die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) eingesetzt.

Die DNA der Kontrollgruppe wurde aus 200µl Blut von gesunden Blutspendern mittels eines Extraktionskits (QIAmpBlood Kit, Qiagen, Hilden), entsprechend dem Protokoll des Herstellers, isoliert.

3.3.2 Polymerase-Kettenreaktion(PCR)

Die PCR erfolgte jeweils in einem Gesamtvolumen von 25 μ l. Die Amplifikation wurde unter den folgenden Bedingungen durchgeführt:

Reaktions-Ansatz:

2 μ l DNA Template

0.25 μ l 3'Primer

0.25 μ l 5'Primer

2.5 μ l 10x PCR-Puffer

0.5 μ l dNTPs (je 10mM von dATP,dCTP,dGTP,dTTP)

0.125 μ l Taq-DNA-Polymerase (Hotstar, 2 units/ μ l)

Aqua dest. ad 25 μ l

Zur Kontrolle wurde ein PCR-Ansatz mit Aqua dest. statt DNA-Template durchgeführt. So konnten effektiv mögliche Kontaminationen oder Kreuzreaktionen (falsch positive Ergebnisse) überwacht werden.

Die Standard PCR-Bedingungen waren hierbei:

Tabelle 2: PCR-Temperaturprogramm für *NQO1*:

Temperatur	Zeit	Zyklusanzahl
94°C	14 min	1

94°C	1 min	40
58°C	1 min	
72°C	2 min	
72°C	7 min	1
4°C	24 h	

Tabelle 3: PCR-Temperaturprogramm für *MTHFR*

Temperatur	Zeit	Zyklusanzahl
94°C	14 min	1
94°C	1 min	40
56°C	1 min	
72°C	2 min	
72°C	7 min	1
4°C	24 h	

3.3.3 Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP)

Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus ist ein Verfahren, bei der man durch bakterielle Endonukleasen spezifische DNA-Sequenzen, an den für das Enzym typischen Stellen in definierte Fragmente, hydrolytisch aufspaltet. Restriktionsendonukleasen sind bakterielle Schutzmechanismen gegen Bakteriophagen. Ihre eigene DNA kann durch die zusätzliche Methylgruppe nicht von diesen Endonukleasen gespalten werden. Der Name leitet sich aus einer Abkürzung von ihrem Wirtsorganismus ab. So steht Hinf für *Häemophilus influenza*. Wenn mehrere Endonukleasen produziert werden, werden diese mit römischen Buchstaben versehen (HaeIII= *Häemophilus ägypticus*).

Um die bestmögliche Enzymaktivität erreichen zu können, benötigt das Restriktionsenzym eine spezifische Salzkonzentration, ein pH- und Temperaturoptimum, weshalb zusätzlich Puffer nach Anweisungen des Herstellers angesetzt wird. Anschließend werden die Proben bei 37°C über drei Stunden inkubiert. Nach Beendigung der Reaktion und Inkubation mit 3 ml Bromphenolblau erfolgt eine Trennung durch eine Agarose-Gelelektrophorese. Die Fragmente werden dann mit Ethidiumbromid als Fluoreszenzfarbstoff mit UV-Licht ($\lambda=302$ nm) sichtbar gemacht.

Der Ansatz setzte sich für *NQOI* wie folgt zusammen:

8µl	PCR Produkt
2µl	Restriktionsenzym (Hinf)
1,1µl	Restriktionsenzympuffer

→3h bei 37°C inkubiert.

Der Restriktionsverdau für *MTHFR* wurde mit folgendem Ansatz durchgeführt:

8µl	PCR Produkt
2µl	Restriktionsenzym (Hinf)
1,1µl	Restriktionsenzympuffer

→3h bei 37°C inkubiert.

3.3.4 Agarose-Gelelektrophorese

Zur Herstellung von Agarose-Gelen wurden 1.6 g Agarosetrockenpulver mit 80 ml eines Puffers (TBE1) versetzt, gemischt und in einer Mikrowelle 90 sec lang aufgekocht, bis sie vollständig gelöst waren. Unter dem Abzug wurden 7µl Ethidiumbromid dazugegeben. Nach dem Abkühlen wurde das Gel in eine Kammer (sog. Brücke) gegossen, ein Taschenformer wurde eingesetzt und eine halbe Stunde stehen gelassen, bis das Gel fest geworden war. Anschließend wurde der Taschenformer vorsichtig entfernt, die Brücke in die Elektrophoresekammer eingesetzt und mit TBE1-Puffer bedeckt, so dass der Spiegel 2mm über dem Gel lag. Die Proben wurden in die Taschen eingefüllt und bei 85 V ungefähr zwei Stunden laufen gelassen. Anschließend wurde das Gel unter UV-Licht ($\lambda=302$ nm) photographiert.

Dabei entsprechen bei *NQO1* ein einzelner 172 bp langer Streifen und bei *MTHFR* ein 180 bp langer Streifen dem homozygoten Wildtyp (d.h., dass das Enzym nicht schneidet), zwei Streifen entsprechen dem heterozygoten Genotyp (das Enzym generiert ein Fragment entsprechender Länge) und ein einzelner Streifen mit einem niedrigen Molekulargewicht entspricht dem homozygoten Null-Allel.

3.4 Chemikalien

Chemikalien	Hersteller
Agarosepulver	GIBCO BRL
Ammoniumpersulfat	Merck
Aqua dest.	Braun
Borsäure	Merck
Bromphenoblau	Sigma
dNTPs	Qiagen
EDTA	Merck
Ethanol (100%,75%)	Riedel de Haen
Ethidiumbromid	Sigma
Formaldehyd(Formalin,37%)	Merck
Formamid	Merck
PCR Puffer	Qiagen
Propanol (100%)	Qiagen
Tris	Merck

3.5 Puffer und Lösungen

Gelladepuffer	0,25% Bromphenolblau
	0,25% Xylencyanol
	30% Glycerin

10x PCR-Puffer	Tris/HCL, pH 8,7 (20°C)
	KCL
	(NH ₄) ₂ So ₄
	15 mM MgCl ₂

1xTBE Puffer	0,09 M Tris/HCL, pH 8,0
	0,09 M Borsäure
	0,002 M EDTA

3.6 Enzyme

Enzyme	Hersteller
Hinf	Boehringer Mannheim

Taq-DNA-Polymerase (Hotstar)	Qiagen
Proteinase K	Merck

3.7 Verwendete Primer

MTHFR

f “forward primer”:

AGG	ACG	GTG	CGG	TGA	GAG	TG
-----	-----	-----	-----	-----	-----	----

r “reverse primer”:

CGA	AGC	AGG	GAG	CTT	TGA	GCG	TG
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	----

NQ 01

f “forward primer”:

AG	CCC	AGA	CCA	ACT	TCT
----	-----	-----	-----	-----	-----

r “reverse primer”:

ATT	TGA	ATT	CGG	GCG	TCT	GCT	G
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	---

3.8 DNA-Längenstandard

Name Firma	Fragmente	
100 Basenpaarleiter	GIBCO BRL	100,200-1500,2072 Bp

3.9 Geräte/sonstige Materialien

Gerät	Hersteller
Elektrophoresekammer	Pharmacia
Mikrowelle, Mikromat	AEG
PCR-Gerät	Biometra
Spannungsgerät, Biometra PowerPack P25	Biometra
Thermoinkubator	Eppendorf
UV-Lichtquelle, BioDocAnalyze	Biometra
Power PAC 3000 Spannungsgerät	BioRad
Schüttlergerät, MS1 Minishaker	IKA
Thermomixer compact	Eppendorf
Waage, Kern 440-33	Kern
Zentrifuge Mikro D	Fisher Scientific

3.10 Statistik

Die statistische Auswertung dieser Fall-Kontroll-Studie erfolgte mit dem SAS-Programm. Der Vergleich der Genotypverteilungen erfolgte mit dem Fisher-Exakt-Test, Chi-quadrat-Test und Mantel-Haenzel-Test. Bei der Versuchsgruppe und der Kontrollgruppe wurden Mittelwerte und Standardabweichungen aus den Einzelergebnissen ermittelt

4. Ergebnisse

4.1 *NAD(P)H-Oxidoreduktase*

Für den *NQOI*-C609T-Polymorphismus ergab sich für die Magenkarzinom-Patienten und der Kontrollgruppe folgende Verteilung:

Der Vergleich der Genotypenfrequenzen ergab einen homozygoten Genotyp 609TT bei fünf (3,9%) Karzinompatienten und vier (1,6%) Kontrollpersonen. Der heterozygote Genotyp CT trat bei 62 (30,6%) Magenkarzinompatienten und 63 (25%) in der Kontrollgruppe auf. Das homozygote Wildtypallel besaßen 133 (65,5%) der Karzinompatienten und 185 (73,4%) der Kontrollgruppe.

In beiden Gruppen wich die untersuchte *NQOI*-Genotypfrequenz nicht signifikant von dem erwarteten Hardy-Weinberg-Equilibrium ($p=1,000$ bei den Magenkarzinom-Patienten; $p=0,930$ bei der Kontrollgruppe) ab. Die 609T-Allelfrequenz trat mit einer Häufigkeit von 0,192 bei Karzinompatienten und 0,141 bei der Kontrollgruppe auf. Die Analyse der Genotypfrequenzen bei Patienten mit bekannter Alkohol- und Nikotin-Exposition ergab ähnliche Werte. Die Verteilung des *NQOI*-Genotyps korrelierte weder mit dem Alter der Patienten noch mit dem Geschlecht (Tabelle 4).

Tabelle 4: Verteilung der *NQOI*-Genotypfrequenzen bei Magenkarzinom-Patienten und der Kontrollgruppe

	Magenkarzinom-Patienten		Kontrollgruppe	
	absolut	relativ %	absolut	relativ %
Homozygot T/T	5	3,9	4	1,6
Heterozygot C/T	62	30,6	63	25,0
Wildtypallel C/C	133	65,5	185	73,4

4.2 *MTHFR*

Der Vergleich der Genotypenfrequenzen ergab einen homozygoten Genotyp TT bei 32 (15%) Karzinompatienten und 33 (12,9%) Kontrollpersonen. Der heterozygote Genotyp CT lag bei 108 (50,7%) der Magenkarzinompatienten und 115 (45,1%) in der Kontrollgruppe vor. Berechnungen der Odds Ratio (OR) der heterozygoten Genotypenfrequenz CT ergab einen Wert von 1,38, ein 95% Konfidenzintervall (0,92-2,05) und der homozygote Genotyp TT ergab ein OR von 1,42, ein Konfidenzintervall von 95% (0,80-2,51). Auch die Analyse der Subgruppen mit Nikotin- oder Alkoholabusus zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen Tumorgruppe und Kontrollgruppe. Die homozygote Genotypfrequenz lag bei den Tumorpatienten bei 13,8% (12/87) und 14,4% (21/146) bei der Kontrollgruppe (Tabelle 5).

Tabelle 5: Verteilung der *MTHFR*-Polymorphismen bei Magenkarzinom-Patienten und der Kontrollgruppe

	Magenkarzinom-Patienten		Kontrollgruppe	
	absolut	relativ %	absolut	relativ %
Homozygot T/T	32	15,0	33	12,9
Heterozygot C/T	108	50,8	115	45,1
Wildtypallel C/C	73	34,3	107	41,9

5. Diskussion

Das Magenkarzinom gehört trotz der abnehmenden Inzidenz in den letzten Jahrzehnten immer noch zu den häufigsten krebsbedingten Todesursachen weltweit. Da die Beschwerden erst in fortgeschrittenen, inkurablen Stadien auftreten, ist das Magenkarzinom mit einer schlechten Prognose und einer erhöhten Mortalität assoziiert. Bei der Diagnosestellung befinden sich in der Regel 79% der Tumore im Stadium IV. Die 5-Jahresüberlebensrate (5-JÜR) beträgt weniger als 5% (Allum et al. 1989, Whiting et al. 2002). Da das Magenkarzinom mit einer schlechten Prognose einhergeht, ist eine frühe Diagnosestellung des Magenkarzinoms mit erfolgreicher Behandlung sinnvoll, um die Mortalität effektiv senken zu können. Dies wird durch die Analyse der Morbidität und Mortalität des Magenkarzinoms in Japan eindrucksvoll untermauert. Weltweit gesehen hat Japan die höchste Inzidenzrate für beide Geschlechter (93 per 100 000 Einwohner), (Whiting et al. 2002). Überraschenderweise belegt Japan den vierten Platz in der Mortalitätsliste hinter Süd Korea, Costa Rica und Sowjet Union (Muir et Harvey 1997). Ein internationaler Vergleich der Krebsregister in Entwicklungsländern und in entwickelten Ländern zeigt eine 5-Jahresüberlebensrate von 20% (Ries et al. 2004, Sankaranarayanan et al. 1999, Sant et al. 2003) wohingegen sie in Japan bei 40-60% liegt (Ajiki et al. 1998, Oshima et al. 2004). Die hohen Überlebensraten in Japan sind darauf zurückzuführen, dass ein großer Teil der Magenkarzinome durch ein Massenscreeningprogramm der Bevölkerung in frühen Stadien diagnostiziert wird (Inoue et Tsugane 2005). Leider kann das japanische Modell nicht direkt auf westliche Länder übertragen werden, da das Magenkarzinom hier zu selten ist, um Screeningprogramme sinnvoll erscheinen zu lassen.

Für die Entstehung des Magenkarzinoms wird eine multifaktorielle Genese durch das Zusammenwirken von genetischen Risikofaktoren und exogenen Noxen diskutiert. So scheinen Ernährungsgewohnheiten, eine chronische Infektion mit *Helicobacter pylori*, Nikotin- und Alkoholgenuß und die familiäre Disposition eine Rolle zu spielen.

In den letzten Jahren fokussierte sich die Erforschung des Magenkarzinoms hauptsächlich auf das Ermitteln von Umgebungsfaktoren und genetischen Risikofaktoren. Studien haben ergeben, dass die erhöhte Aufnahme von geräucherten, gesalzenen, nitrathaltigen und erhöhten kohlehydrathaltigen Nahrungsmitteln sowie die verminderte Aufnahme von Obst, Gemüse und Milch das Risiko für die Entstehung eines Magenkarzinoms signifikant erhöht (Howson et al. 1986, Kramer et al. 1995). Weitere Studien haben ergeben, dass eine Infektion mit dem Bakterium *Helicobacter pylori* zu einem 2,7-12-fach erhöhten Risiko führt (Cover et Blaser 1995). Außerdem konnte man in Magenkarzinomzellen die Präsenz von Epstein-Barr-Virusmaterial mittels PCR und in situ Hybridisierung ermitteln (Watanebe et al. 1997).

Wie bereits erwähnt, scheint das Magenkarzinom durch das Zusammenwirken mehrerer Risikofaktoren zu entstehen. Daneben können einige Veränderungen als präkanzeröse Konditionen dienen, die das Entstehen von Magenkarzinomen begünstigen können. Diese verschiedenen pathologischen Faktoren wurden mit einem erhöhten Risiko für ein Magenkarzinom in Zusammenhang gebracht. Zu diesen Konditionen gehören u.a. die chronisch atrophische Gastritis, Magenpolypen und Magenstumpf nach einer Magenteilresektion.

Pathologische und epidemiologische Studien haben bewiesen, dass das Magenkarzinom sich mit der Folge chronische Gastritis, Atrophie, intestinale Metaplasie und Dysplasie entwickelt. Dabei können ein erhöhter Salzkonsum und eine Infektion mit *Helicobacter pylori* zu einer Gastritis und Atrophie führen (Correa 1992).

Eine Infektion mit *Helicobacter pylori* ist sehr häufig. Man nimmt an, dass ungefähr die Hälfte der menschlichen Bevölkerung mit diesem Bakterium infiziert ist. Trotzdem entwickelt nur ein kleiner Teil ein Magenkarzinom. Daraus schließt man, dass zusätzliche Faktoren, wie zum Beispiel Ernährungsgewohnheiten oder Virulenz des Erregers, bei der Entstehung eines Magenkarzinoms mitwirken (Magnusson et al. 2001, Cox et al. 2001, Achtman et al. 1999).

Helicobacter pylori verändert die Expression bestimmter Gene, u. a. die für Wachstumsfaktoren, Zytokine/Chemokine und ihrer Rezeptoren, der Apoptose Proteine und Transkriptionsstörungen kodieren (Shang et Pena 2005).

Eine gut untersuchte und mit dem Magenkarzinomrisiko einhergehende Veränderung ist ein genetischer Polymorphismus des proinflammatorischen Zytokins Interleukin-1beta (IL-1 β), (El-Omar et al. 2000, 2001). El Omar et al. berichteten im Jahre 2000 über einen positiven Zusammenhang zwischen den IL-1-Polymorphismen und einem erhöhten Risiko für ein Magenkarzinom und seiner Vorstufen. Sie untersuchten das IL-1 β -Genkomplex bei 429 Magenkarzinom-Patienten und bei 366 Gesunden in Polen und Schottland und fanden heraus, dass der homozygote 511TT-Genotyp mit einem erhöhten Magenkarzinomrisiko einhergeht (OR, 2,6; 95% KI, 1,7-3,9). Auch der heterozygote Genotyp CT wies ein erhöhtes Risiko auf (OR 1,8; 95% KI 1,3-2,4). Außerdem erkannten sie, dass diese Polymorphismen mit einer Hypochlorhydrie einhergingen (El Omar et al. 2000, Furuta et al. 2002).

Interleukin-1beta ist ein potentes proinflammatorisches Zytokin. Es ist ungefähr ein 100-fach stärkerer Inhibitor der Magensäure als die Protonenpumpenhemmer (Correa et Schneider 2005). Durch eine Infektion mit dem Bakterium *Helicobacter pylori* kommt es zu einer erhöhten Produktion des IL-1 β , welches die Inflammation einleitet und verstärkt (Shang et Pena 2005).

Basierend auf diesem Hintergrund haben wir mittels dieser vorliegenden Arbeit untersucht, ob es einen Zusammenhang des Magenkarzinoms mit den Polymorphismen der *NQO1*- und *MTHFR*-Gene gibt, damit man durch einfache Blutuntersuchungen Hochrisikokollektive identifizieren kann, die eventuell durch Frühdiagnose und therapeutische Interventionen profitieren könnten.

5.1 *NQO1*

Die meisten chemischen Karzinogene benötigen für die metabolische Aktivierung zum Mutagen Enzyme des Organismus (Guengerich 1992).

Die *NAD(P)H-Oxidoreduktase* ist ein zytosolisches Enzym, das die zwei-Elektron Reduktion von Chinonkomponenten katalysiert. Dadurch wird die Produktion von Semichinon-Radikalen und reaktiven Sauerstoff-Spezies verhindert und die Zelle vor einem oxidativen Schaden bewahrt. Außerdem katalysiert die *NQO1* die reduktive Aktivierung von Chinoiden Chemotherapeutika, wie das Mitomycin C, Umgebungskarzinogene, wie die heterozyklischen Amine und die karzinogenen Komponenten des Zigarettenrauchens, das Kondensat (Rauth et al. 1997).

Das *NQO1*-609T-Allel findet sich gehäuft bei Patienten, die an einen Tumor leiden, der durch chemische Karzinogene verursacht wurde, wie zum Beispiel das Urothel-, Nierenkarzinom (Schulz et al. 1997) und Leukämien (Wiemels et al. 1999, Larson et al. 1999). Widersprüchliche Ergebnisse wurden für das Lungenkarzinom veröffentlicht (Rosvold et al. 1995, Chen et al. 1999, Xu et. Al. 2001).

Der *NQO1* Polymorphismus zeigt auch ethnische Unterschiede an, so findet man das Null- Allel, etwa doppelt so häufig bei der chinesischen Bevölkerung, als bei den Kaukasiern (Gaedigk et al. 1998).

Frühere Studien zeigten zu dem, dass ein C609T Polymorphismus des *NQO1*-Gens etwa doppelt so häufig bei deutschen Patienten mit einem Adenokarzinom der Kardia oder mit einem Barrett-Ösophagus vorkommt, als bei einer Gruppe von gesunden Blutspendern. Dies entspricht einer vorher veröffentlichten Studie einer Kohorte aus 271 gesunden Freiwilligen aus derselben geographischen Region (Schulz et al.1997, Sarbia et al.2003). Interessanterweise zeigten sowohl Ösophaguskarzinom- als auch Kardiakarzinom-Patienten, im Gegensatz zu der Kontrollgruppe, eine erhöhte Prävalenz sowohl im homozygoten als auch im heterozygoten Genotyp.

5.2 *MTHFR*

In früheren Studien wurde ein Zusammenhang zwischen dem C677T Polymorphismus im *MTHFR*-Gen mit der Entstehung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen (Kang et al. 1991, Boushey et al. 1995, Fletcher et Kessling 1998, Bailey und Gregory 1999, Wald et al. 2002), Neuralrohrdefekten und Kolon-Karzinomen festgestellt (Giovannucci et al.1993, Ferraroni et al. 1994, Ma et al.1997).

Die gegenwärtige Studie zeigt, dass ein C677T Polymorphismus im *MTHFR*-Gen nicht zu einem erhöhten Risiko für die Entstehung eines Magenkarzinoms bei der deutsch-kaukasischen Bevölkerung beiträgt.

Es wird angenommen, dass der *MTHFR*-Polymorphismus über die Folataufnahme zu einer Krebsentstehung beiträgt (Chen et al. 1996, Ma et al. 1997). Bei ausreichender Folataufnahme dürften Träger des *MTHFR*-Genotyps ein vermindertes Risiko aufweisen, weil ausreichend Methylgruppendonoren gewährleistet sind. In der Bevölkerung jedoch ist die Folataufnahme gering, sodass sowohl die DNA-Methylierung als auch die DNA-Synthese und die DNA-Reparatur bei den Trägern verschiedener *MTHFR*-Genotypen beeinträchtigt sind. Dies bedeutet wiederum ein erhöhtes Risiko für die Krebsentstehung (Miao et al. 2002).

Unser Ergebnis steht im Gegensatz zu zwei zuvor veröffentlichten Studien, welche eine Assoziation zwischen dem Polymorphismus im *MTHFR*-Gen und einen erhöhten Risiko für die Entstehung eines Adenokarzinoms des Magens (Shen et al.2001) und eines Kardiakarzinoms (Miao et al. 2002) bei der chinesischen Bevölkerung nachgewiesen haben. Die Diskrepanz könnte also dadurch erklärt werden, dass die verschiedenen Bevölkerungen verschiedenen exogenen Risikofaktoren ausgesetzt sind. Somit ist das Krebsrisiko, welches durch das *MTHFR* C677T-Allel ausgelöst wird, wahrscheinlich durch eine Gen-Ernährung-

Interaktion reguliert und könnte zum größten Teil von der nutritiven Folataufnahme und von dem Plasmafolat-Spiegel abhängen. Folglich könnte eine beeinträchtigte *MTHFR*-Enzymaktivität bei der deutschen Bevölkerung durch eine ausreichende exogene Folataufnahme kompensiert werden.

Außerdem könnten die Unterschiede in der Prävalenz einer *Helicobacter pylori* Infektion bei der kaukasischen und chinesischen Bevölkerung die verschiedenen Auswirkungen eines *MTHFR*-Polymorphismus theoretisch erklären. Leider können wir zu diesem Punkt keine Stellung nehmen, da Informationen über eine *Helicobacter pylori* Infektion der Karzinom-Patienten und der Kontrollgruppe nicht vorliegen. Außerdem war die Ermittlung weiterer potentieller Risikofaktoren, wie der Alkohol- und Nikotinkonsum, nicht bei allen Patienten retrospektiv möglich; Angaben zur Folataufnahme über die Nahrung fehlen leider gänzlich.

6. Zusammenfassung

Titel: „Adenokarzinom des Magens und C609T Polymorphismus des NAD(P)H-Oxidoreduktase-Gens sowie C677T Polymorphismus der Methylentetrahydrofolat-Reduktase-Gens: Bedeutung für die Tumordisposition?“

Doktorandin: Yasemin Kandemir

Trotz des abnehmenden Trends gehört das Magenkarzinom zu den wichtigsten malignen Tumoren weltweit. In dieser Fall-Kontroll-Studie haben wir die Polymorphismen der *NQO1*- und *MTHFR*-Gene mittels Polymerase-Kettenreaktion untersucht, um zu prüfen, ob Polymorphismen dieser beiden Gene bei Magenkarzinompatienten häufiger vorkommen, als in der Normalbevölkerung. Im positiven Fall könnte eine Analyse dieser Polymorphismen zukünftig potentielle Hochrisikopatienten identifizieren, die von regelmäßigen endoskopischen Screeninguntersuchungen bzw. frühzeitigen therapeutischen Interventionen profitieren könnten.

Die Untersuchung bei der *NQO1* ergab, dass 5 (3,9%) Patienten homozygot, 62 (30,6%) heterozygot und 133 (65,5%) homozygot für das Wildtypallel waren. Bei der Kontrollgruppe ermittelten wir ähnliche Werte, es waren 4 (1,6%) von 252 Kontrollpersonen homozygot für den Genotyp TT, 63 (25%) zeigten den heterozygoten Genotyp CT und 185 (73,4%) besaßen das Wildtypallel.

Die Analyse des *MTHFR*-Gens ergab bei dem Vergleich der Genotypenfrequenzen ähnliche Resultate. Der homozygote Genotyp TT trat bei 32 (15%) Patienten und bei 33 (12,9%) Kontrollpersonen auf. Der heterozygote Genotyp CT lag bei 108 (50,7%) Karzinompatienten und bei 115 (45,1%) Kontrollpersonen vor. Auch bei Berücksichtigung potentieller Kofaktoren (Rauchen und Alkoholgenuss) zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Die homozygote Genotypfrequenz liegt bei den Patienten bei 13,8% (12/87) und 14,4% (21/146) bei der Kontrollgruppe.

Die Prävalenz bei Karzinompatienten und der Kontrollgruppe ist annähernd bei beiden Genen gleich. Aufgrund dieser Ergebnisse kann keine Assoziation zwischen der Entstehung des Magenkarzinom und den Polymorphismen der *NQO1*- und *MTHFR*-Gene bei der deutsch-kaukasischen Bevölkerung angenommen werden.

Literaturverzeichnis

Achtman M, Azuma T, Berg DE, Ito Y, Morelli G, Pan ZJ, Suerbaum S, Thompson SA, van der Ende A, van Doorn LJ. Recombination and clonal groupings within *Helicobacter pylori* from different geographical regions. *Mol Microbiol.* 1999;32:459-470.

Ames BN. Mutagenesis and carcinogenesis: endogenous and exogenous factors. *Environ Mol Mutagen.* 1989;14 Suppl 16:66-77.

Ajiki W, Matsuda T, Sato Y, et al. A standard methods of calculating survival rates in population-based cancer registries. *Jpn J Cancer Clin.* 1998;44:981-93.

Allum WH, Powell DJ, McConkey CC, et al. Gastric cancer: a 25-year review. *Br J Surg.* 1989;76:535-40.

Bailey LB, Gregory JF 3rd. Folate metabolism and requirements. *J Nutr.* 1999;129:779-82.

Bailey LB, Gregory JF 3rd. Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and other enzymes: metabolic significance, risks and impact on folate requirement. J Nutr. 1999;129:919-22.

Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. JAMA. 1995;274:1049-57.

Brinton LA, Gridley G, Hrubec Z, Hoover R, Fraumeni JF Jr. Cancer risk following pernicious anaemia. *Br J Cancer.* 1989;59:810-3.

Chen J., Giovannucci E., Kelsey K., Rimm E. B., Stampfer M. J., Colditz G. A., Spiegelman D., Willett W. C., Hunter D. J. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and the risk of colorectal cancer. *Cancer Res.* 1996;56:4862-4864.

Chen S, Clarke PE, Martino PA, Deng PS, Yeh CH, Lee TD, Prochaska HJ, Talalay P Mouse liver NAD(P)H:quinone acceptor oxidoreductase: protein sequence analysis by tandem mass spectrometry, cDNA cloning, expression in *Escherichia coli*, and enzyme activity analysis. *Protein Sci.* 1994;3:1296-304.

Chen H., Lum A., Seifried A., Wilkens L.R. and Marchand L.L. Association of the NAD(P)H: quinone oxidoreductase 609C→T polymorphism with a decreased lung cancer risk. *Cancer Res.* 1999;59:3045–3048.

Choi SW, Mason JB. Folate and carcinogenesis: an integrated scheme. J Nutr. 2000;130:129-32.

Choi SW, Mason JB. Folate status: effects on pathways of colorectal carcinogenesis. *J. Nutr.* 2002;132:2413S-2418S.

Correa P. Chronic gastritis: a clinico-pathological classification *Am J Gastroenterol.* 1988;83:504-9.

Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process- First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer Res* 1992;52:6735-6740.

Correa P, Schneider BG. Etiology of gastric cancer: what is new? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005;14:1865-8.

Cover T.L. and Blaser M.J. *Helicobacter pylori*: a bacterial cause of gastritis, peptic ulcer disease, and gastric cancer. *Am. Soc. Microbiol. News* 1995;61:21–26.

Cox JM, Clayton CL, Tomita T, Wallace DM, Robinson PA, Crabtree JE. cDNA array analysis of cag pathogenicity island-associated Helicobacter pylori epithelial cell response genes. *Infect Immun* 2001;69:6970-6980.

Davies KJ, Goldberg AL. Proteins damaged by oxygen radicals are rapidly degraded in extracts of red blood cells. *J Biol Chem*. 1987;262:8227-34.

Demirer T, Icli F, Uzunalimoglu O, Kucuk O. Diet and stomach cancer incidence. A case-control study in Turkey. *Cancer*. 1990;65:2344-8.

El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, McColl KE, Bream JH, Young HA, Herrera J, Lissowska J, Yuan CC, Rothman N, Lanyon G, Martin M, Fraumeni JF Jr, Rabkin CS. The role of interleukin-1 polymorphisms in the pathogenesis of gastric cancer. *Nature* 2001;412:99.

El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, McColl KE, Bream JH, Young HA, Herrera J, Lissowska J, Yuan CC, Rothman N, Lanyon G, Martin M, Fraumeni JF Jr, Rabkin CS. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature* 2000;404:398-402.

Ernster, L. DT-diaphorase. *Methods Enzymol*, 1967;10:309–317.

Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis *Cell*. 1990;61:759-67.

Ferraroni M, La Vecchia C, D'Avanzo B, Negri E, Franceschi S, Decarli A. Selected micronutrient intake and the risk of colorectal cancer. *Br J Cancer*. 1994;70:1150-5.

Fletcher O, Kessling AM. MTHFR association with arteriosclerotic vascular disease? *Hum Genet*. 1998;103:11-21.

Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, Boers GJ, den Heijer M, Kluijtmans LA, van den Heuvel LP. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet.* 1995;10:111-3.

Fuchs CS, Mayer RJ. Gastric carcinoma. *N Engl J Med.* 1995;333:32-41.

Furuta T, El-Omar EM, Xiao F, Shirai N, Takashima M, Sugimura H. Interleukin 1beta polymorphisms increase risk of hypochlorhydria and atrophic gastritis and reduce risk of duodenal ulcer recurrence in Japan. *Gastroenterology.* 2002;123:92-105.

Gaedigk A., Tyndale R.F., Jurima-Romet M., Sellers E.M., Grant D.M. and Leeder J.S. NAD(P)H: quinone oxidoreductase polymorphisms and allele frequencies in Caucasians, Chinese and Canadian Native Indian and Inuit populations. *Pharmacogenetics* 1998;8:305–313.

Giovannucci E, Stampfer MJ, Colditz GA, Rimm EB, Trichopoulos D, Rosner BA, Speizer FE, Willett WC. Folate, methionine, and alcohol intake and risk of colorectal adenoma. *J Natl Cancer Inst.* 1993;85:875-84.

Gonzalez CA, Sala N, Capella G. Genetic susceptibility and gastric cancer risk. *Int J Cancer* 2002;100:249-260.

Goyette P, Sumner JS, Milos R, Duncan AM, Rosenblatt DS, Matthews RG, Rozen R. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA mapping and mutation identification. *Nat Genet.* 1994;7:195-200.

Guengerich FP. Metabolic activation of carcinogens. *Pharmacol Ther* 1992;54:17-61.

Haenszel W, Kurihara M, Locke FB, Shimuzu K, Segi M. Stomach cancer in Japan. *J Natl Cancer Inst.* 1976;56:265-74.

Halsted, C. Alcohol and folate interactions: clinical implications. Bailey, L. B. eds. Folate in Health and Disease Marcel Dekker New York, NY 1995;313-327.

Hamilton SR, Aaltonen LA, editors. World Health Organisation. Classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of the digestive system. Lyon: IARC Press, 2000.

Hanahan D, Weinberg RA The hallmarks of cancer. Cell. 2000;100:57-70.

Hansson LE, Baron J, Nyren O, Bergstrom R, Wolk A, Adami HO. Tobacco, alcohol and the risk of gastric cancer. A population-based case-control study in Sweden. Int J Cancer. 1994;57:26-31.

Hohenberger P, Gretscher S. Gastric Cancer. The Lancet 2003;362:305-315.

Hoshiyama Y, Sasaba T. A case-control study of stomach cancer and its relation to diet, cigarettes, and alcohol consumption in Saitama Prefecture, Japan. Cancer Causes Control. 1992;3:441-8.

Howson,C.P., Hiyama,T. and Wynder,E.L. The decline in gastric cancer: epidemiology of an unplanned triumph. Epidemiol. Rev. 1986;8:1-27.

Hsing AW, Hansson LE, McLaughlin JK, Nyren O, Blot WJ, Ekbom A, Fraumeni JF Jr. Pernicious anemia and subsequent cancer. A population-based cohort study. Cancer. 1993;71:745-50.

IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Infection with Helicobacter Pylori. International Agency for Research on Cancer

(IARC) (ed.) IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. IARC Scientific Publications, No.61, IARC, Lyon 1994; pp177-241.

Inoue M, Tsugane S. Epidemiology of gastric cancer in Japan. *Postgrad Med J*. 2005;81:419-24.

Iyanagi T and Yamazaki I. One-electron-transfer reactions in biochemical systems. V. Difference in the mechanism of quinone reduction by the NADH dehydrogenase and the NAD(P)H dehydrogenase (DT-diaphorase). *Biochim Biophys Acta* 1970;216:282-294.

Jaiswal AK. Human NAD(P)H: quinone oxidoreductase (NQO-1) gene structure and induction by dioxin. *Biochemistry* 1991;30:10647-10653.

Jaiswal AK, McBride OW, Adesnik M, Nebert DW. Human dioxin-inducible cytosolic NAD(P)H:menadione oxidoreductase. cDNA sequence and localization of gene to chromosome 16. *J Biol Chem*. 1988;263:13572-8.

Kabat GC, Ng SK, Wynder EL. Tobacco, alcohol intake, and diet in relation to adenocarcinoma of the esophagus and gastric cardia *Cancer Causes Control*. 1993;4:123-32.

Kang SS, Wong PW, Susmano A, Sora J, Norusis M, Ruggie N. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease. *Am J Hum Genet*. 1991;48:536-45.

Kelsey KT, Ross D, Traver RD, Christian DC, Zuo ZF Spitz MR, Wang M, Xu X, Lee BK, Schwartz BS and Wiencke JK. Ethnic variation in the prevalence of a common NAD(P)H:quinone oxidoreductase polymorphism and its implications for anticancer chemotherapy. *Br. J. Cancer* 1997;76:852–854.

Kim YI. Methylene-tetrahydrofolate reductase polymorphisms, folate, and cancer risk: a paradigm of gene-nutrient interactions in carcinogenesis. *Nutr Rev* 2000;58:205-9.

Kneller RW, McLaughlin JK, Bjelke E, Schuman LM, Blot WJ, Wacholder S, Gridley G, CoChien HT, Fraumeni JF Jr. A cohort study of stomach cancer in a high-risk American population. *Cancer*. 1992;69:2867-8.

Kramer,B.S. and Johnson,K.A. Other gastrointestinal cancers: stomach, liver. In Greenwald,P., Kramer,B.S. and Weed,D.L. (eds) *Cancer Prevention and Control*. Marcel Dekker, New York, NY 1995, pp. 673–694.

Kuehl BL, Paterson JW, Peacock JW, Paterson MC, Rauth AM. Presence of a heterozygous substitution and its relationship to DT-diaphorase activity. *Br J Cancer* 1995;72:555-561.

Lang S, Wollenberg B, Dellian M, Steuer-Vogt MK, Schwenzer K, Sautier W, Chucholowski M, Eckel R, Faas I, Wilmes E, Ehrenfeld M, Arnold W, Kastenbauer E. Clinical and epidemiological data of patients with malignomas of the head and neck. *Laryngorhinootologie* 2002;81:499-508.

La Vecchia C, Negri E, D'Avanzo B, Boyle P, Franceschi S. Dietary indicators of oral and pharyngeal cancer. *Int J Epidemiol*. 1991;20:39-44.

La Vecchia C, Negri E, Franceschi S, Gentile A. Family history and the risk of stomach and colorectal cancer. *Cancer*. 1992;70:50-5.

Larson,R.A., Wang,X., Banerjee,M., Wiemels,J., Hartford,C., Lebeau,M.M. and Smith,M.T. Prevalence of the inactivating 609CT polymorphism in the NAD(P)H: quinone oxidoreductase (NQO1) gene in patients with primary and therapy-related myeloid leukemia. *Blood* 1999;94:803–807.

Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: Diffuse and so-called intestinal type carcinoma. *Acta Path Immunol Scand*. 1965;64:31-49.

Levi F, Pasche C, La Vecchia C, Lucchini F, Franceschi S, Monnier P. Food groups and risk of oral and pharyngeal cancer. *Int J Cancer*. 1998;77:705-9.

Long DJ 2nd, Waikel RL, Wang XJ, Roop DR, Jaiswal AK. NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 deficiency and increased susceptibility to 7,12-dimethylbenz[a]-anthracene-induced carcinogenesis in mouse skin. *J Natl Cancer Inst*. 2001;93:1166-1170.

Ma J, Stampfer MJ, Giovannucci E, Artigas C, Hunter DJ, Fuchs C, Willett WC, Selhub J, Hennekens CH, Rozen R. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, dietary interactions, and risk of colorectal cancer. *Cancer Res*. 1997;57:1098-102.

Magnusson PKE, Enroth H, Eriksson I, Held M, Nyren O, Engstrand L, Hansson LE, Gyllenstein UB. Gastric cancer and human leukocyte antigen: distinct DQ and DR alleles are associated with development of gastric cancer and infection by *Helicobacter pylori*. *Cancer Res*. 2001;61:2684-2689.

Matzner MJ, Raab AP, Spear PW. Benign giant gastric rugae complicated by submucosal gastric carcinoma; report of case. *Gastroenterology*. 1951;18:296-302.

Mayne ST, Risch HA, Dubrow R, Chow WH, Gammon MD, Vaughan TL, et al. Nutrient intake and risk of subtypes of esophageal and gastric cancer. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2001;10:1055-62.

Miao X, Xing D, Tan W, Qi J, Lu W, Lin D. Susceptibility to gastric cardia adenocarcinoma and genetic polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase in an at-risk Chinese population. *Cancer Epidemiol Biomark Prev*. 2002;11:1454-8.

Mirvish SS. The etiology of gastric cancer. Intra gastric nitrosamide formation and other theories J Natl Cancer Inst. 1983;71:629-47.

Moran JL, Siegel D, Ross D. A potential mechanism underlying the increased susceptibility of individuals with a polymorphism in NAD(P)H quinone oxidoreductase 1 (NQO1) to benzene toxicity. Proc Natl Acad Sci USA 1999;96:8150-5.

Muir,C.S. and Harvey,J.C. Cancer of the stomach: overview. In Sugimura,T. and Sasako,M. (eds) Gastric Cancer. Oxford University Press, Oxford, UK, 1997 pp. 3–21.

Nakamura T, Nakano G. Histopathological classification and malignant change in gastric polyps. J Clin Pathol. 1985;38:754-64.

Nomura A, Grove JS, Stemmermann GN, Severson RK. A prospective study of stomach cancer and its relation to diet, cigarettes, and alcohol consumption. Cancer Res. 1990;50:3804.

Ochiai,A. and Hirohashi,S. Multiple genetic alterations in gastric cancer. In Sugimura,T. and Sasako,M. (eds) Gastric Cancer. Oxford University Press, Oxford, UK, 1997 pp. 87–99.

Oshima A, Kuroishi T, Tajima K, eds. Cancer statistics—incidence, mortality, and survival—2004. Japan: Shinohara Shuppan, 2004.

Parkin DM, Pisani P Ferlay J. Global cancer statistics. CA Cancer J.Clin. 1999;49:33-64.

Parsonnet J., Friedman, G.D., Vandersteen, D.P., Chang, Y., Vogelmann, J.H., Orentreich, N., and Sibley, R.K. Helicobacter pylori infection and the risk of gastric carcinoma. N. Engl. J. Med. 1991;325:1127–1131.

Pisani P, Parkin DM, Bray F, Ferlay J. Estimates worldwide mortality from 25 cancers in 1990. Int J Cancer 1999;83:18-29.

Rauth AM, Goldberg Z, Misra V. DT-diaphorase: possible roles in cancer chemotherapy and carcinogenesis. Oncol Res 1997;9:339-349.

Ries L AG, Eisner M P, Kosary C L, et al., eds. SEER cancer statistics review, 1975–2001. Bethesda, MD: National Cancer Institute, (http://seer.cancer.gov/csr/1975_2001/, 2004).

Risch HA, Jain M, Choi NW, Fodor JG, Pfeiffer CJ, Howe GR, Harrison LW, Craib KJ, Miller AB. Dietary factors and the incidence of cancer of the stomach. Am J Epidemiol. 1985;122:947-59.

Robertson JA, Chen HC, Nebert DW. NAD(P)H:menadione oxidoreductase. Novel purification of enzyme cDNA and complete amino acid sequence, and gene regulation. J Biol Chem. 1986;261(33):15794-9.

Ross D, Kepa JK, Winski SL, Beall HD, Anwar A, Siegel D. NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1): chemoprotection, bioactivation, gene regulation and genetic polymorphisms. Chem Biol Interact 2000;129:77-97.

Rosvold E.A., McGlynn K.A., Lustbader E.D. and Buetow K.H. Re: Detection of a point mutation in NQO1 (DT-diaphorase) in a patient with colon cancer (letter). J. Natl Cancer Inst. 1995;87:1802–1803.

Rosvold E.A., McGlynn K.A., Lustbader E.D. and Buetow K.H. () Identification of an NAD(P)H: quinone oxidoreductase polymorphism and its association with lung cancer and smoking. *Pharmacogenetics* 1995;5:199–206.

Sankaranarayanan R, Black RJ, Parkin DM, eds. *Cancer survival in developing countries*. Lyon: IARC, 1999.

Sant M, Aareleid T, Berrino F, et al. EUROCARE Working Group. EUROCARE-3: survival of cancer patients diagnosed 1990–94—results and commentar. *Ann Oncol* 2003;14(suppl 5):v61–118.

Sarbia M, Bitzer M, Siegel D, Ross D, Schulz WA, Zotz RB, Kiel S, Geddert H, Kandemir Y, Walter A, Willers R, Gabbert HE. Association between NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1) inactivating C609T polymorphism and adenocarcinoma of the upper gastrointestinal tract. *Int J Cancer*. 2003;107:381-6.

Sarbia M, Geddert H, Kiel S, Kandemir Y, Schulz WA, Vossen S, Zotz RD, Willers R, Baldus SE, Schneider PM, Gabbert HE. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and risk of adenocarcinoma of the upper gastrointestinal tract. *Scand J Gastroenterol*. 2005;40:109-11.

Schulz WA, Krummeck A, Rösinger I, Eickelmann P, Neuhaus C, Ebert T, Schmitz-Dräger BJ, Sies H. Increased frequency of a null-allele for NAD(P)H: quinone oxidoreductase in patients with urological malignancies. *Pharmacogenetics* 1997;7:235-239.

Schulz W.A., Krummeck A., Rösinger I., Eickelmann P., Neuhaus C., Ebert T., Schmitz-Dräger B.J. and Sies H. Increased frequency of a null-allele for NAD(P)H: quinone oxidoreductase in patients with urological malignancies. *Pharmacogenetics* 1997;7:235–239.

Scott JM, Weir DG. Folic acid, homocysteine and one-carbon metabolism: a review of the essential biochemistry. J Cardiovasc Risk 1998;5:223-7.

Shang J, Pena AS. Multidisciplinary approach to understand the pathogenesis of gastric cancer. World J Gastroenterol. 2005;11:4131-9.

Shen H, Xu Y, Zheng Y, Qian Y, Yu R, Qin Y, et al. Polymorphisms of 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase and risk of gastric cancer in a Chinese population: a case-control study. Int J Cancer 2001;95:322-6.

Siegel D, Gibson NW, Preusch PC, Ross D. Metabolism of mitomycin C by DT-diaphorase: role in mitomycin C-induced DNA damage and cytotoxicity in human colon carcinoma cells. Cancer Res. 1990;50:7483-9.

Sobin LH, Wittekind C, eds. TNM classification of malignant tumours. 6th edition. New York: Wiley-Liss, Inc., 2002.

Stalnikowicz R, Benbassat J. Risk of gastric cancer after gastric surgery for benign disorders. Arch Intern Med. 1990;150:2022-6.

Terry MB, Gaudet MM, Gammon MD. The epidemiology of gastric cancer. Semin Radiat Oncol 2002;12:111-127.

Tersmette AC, Offerhaus GJ, Tersmette KW, Giardiello FM, Moore GW, Tytgat GN, Vandenbroucke JP. Meta-analysis of the risk of gastric stump cancer: detection of high risk patient subsets for stomach cancer after remote partial gastrectomy for benign conditions. Cancer Res. 1990;50:6486-9.

Traver RD, Horikoshi T, Danenberg KD, Stadlbauer TH, Danenberg PV, Ross D, Gibson NW. NAD(P)H:quinone oxidoreductase gene expression in human colon carcinoma cells: characterization of a mutation which modulates DT-diaphorase activity and mitomycin sensitivity. *Cancer Research*. 1992;52:797-802.

UICC. TNM Classification of malignant tumours. 6th edition, 2002.

Ulrich CM, Kampman E, Bigler J, Schwartz SM, Chen C, Bostick R, Fosdick L, Beresford SA, Yasui Y, Potter JD. Colorectal adenomas and the C677T MTHFR polymorphism: evidence for gene-environment interaction? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1999;8:659-68.

Wagner C. Biochemical role of folate in cellular metabolism Bailey L. B. eds. *Folate in Health and Disease*, 23-42, Marcel Dekker New York 1995.

Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. BMJ. 2002;325:1202.

Watanabe S., Tsugane S. and Yamaguchi N. Etiology. In Sugimura,T. and Sasako,M. (eds) *Gastric Cancer*. Oxford University Press, Oxford, UK, 1997 pp. 33–51.

Wayman J, Forman D, Griffin SM. Monitoring the changing patterns of esophago-gastric cancer: data from UK regional cancer register. *Cancer Causes Control* 2001;12:943-949.

Weinberg RA, The molecular basis of carcinogenesis: understanding the cell cycle clock. *Cytokines Mol Ther*. 1996;2:105-10.

Whiting JL, Sigurdsson A, Rowlands DC, Hallissey MT, Fielding JW. The long term results of endoscopic surveillance of premalignant gastric lesions. *Gut*. 2002;50:378-81.

Wiemels,J.L., Pagnamenta,A., Taylor,G.M., Eden,O.B., Alexander,F.E. and Greaves,M.F. United Kingdom Childhood Cancer Study Investigators. A lack of a functional NAD(P)H: quinone oxidoreductase allele is selectively associated with pediatric leukemias that have MLL fusions. *Cancer Res.* 1999;59:4095–4099.

Wiencke, J.K., Spitz, M.R., McMillan, A. and Kelsey, K.T. Lung cancer in Mexican-Americans and African-Americans is associated with the wild-type genotype of the NAD(P)H: quinone oxidoreductase polymorphism. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1997;6:87–92.

Xu LL, Wain JC, Miller DP, Thurston SW, Su L, Lynch TJ, Christiani DC The NAD(P)H:quinone Oxidoreductase 1 Gene Polymorphism and Lung Cancer *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001;10:303-9.

Zanghieri G, Di Gregorio C, Sacchetti C, Fante R, Sassatelli R, Cannizzo G, Carriero A, Ponz de Leon M. Familial occurrence of gastric cancer in the 2-year experience of a population-based registry. *Cancer.* 1990;66:2047-51.

Zhang J, Schulz WA, Li Y, Wang R, Zotz R, Wen D, Siegel D, Ross D, Gabbert HE, Sarbia M. Association of NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1) C609T polymorphism with esophageal squamous cell carcinoma in a German Caucasian and a northern Chinese population. *Carcinogenesis.* 2003;24:905-9.

8. Anhang

8.1 Lebenslauf

Yasemin Kandemir

Geburtsdatum	:	1. Januar 1976
Geburtsort	:	Neuss
Familienstand	:	ledig
Nationalität	:	Deutsch
Eltern:		
Mutter:		Yurdagül Kandemir, geb. Arslan
Vater:		Nizamettin Kandemir

Schulbildung

1982-1985	Grundschule	Alfred- Delp Grundschule, Neuss
1985-1986	Grundschule	Mehmet Akif Grundschule, Uşak (Türkei)
1986-1988	Mittelstufe	Hauptschule Weckhoven, Neuss
1988-1992	Mittelstufe	Realschule Südstadt, Neuss
1992-1995	Oberstufe	Nelly- Sachs Gymnasium, Neuss

Berufsausbildung

10.1995-	Ausbildung	als	Universitätsklinikum Düsseldorf
09.1998	Krankenschwester		

Hochschulbildung

1998-2004	Studium der Humanmedizin	Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf
10.01.05	Approbation	Bezirksregierung Düsseldorf

Neuss, 24/ Juni 2010

8.2 Danksagung

Ich danke Gott.

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. M. Sarbia möchte ich für die Betreuung und Unterstützung ganz herzlich danken.

Des Weiteren möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. H. E. Gabbert für die Möglichkeit der Promotion danken.

Mein Dank gilt außerdem Fr. Dr. rer. nat. Sybille Kiel für die freundliche Unterstützung des praktischen Teils dieser Arbeit, für die fachliche Beratung und die gute Zusammenarbeit, für die moralische Unterstützung sowie angenehme und humorvolle Zeit.

Meinen Freunden Arzu Gül, Houssain Makhoulfi, Jamal Zaouaghi und Thuraya Al-Haj Mustafa sowie meiner Motivationsquelle Nazime Kirici danke ich ebenfalls.

Ein ganz herzliches Dankeschön geht an meine lieben Eltern Yurdagül und Nizamettin Kandemir, für ihre Unterstützung, ihr Vertrauen und ihre Liebe.

