Medizinische Universitätsklinik und Poliklinik der Universität Ulm
Abteilung Innere Medizin I
Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. G.Adler

Molekulare und klinische Genetik neuroendokriner Tumoren des Gastrointestinaltrakts. Ein systematischer Literatur-Review.

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät der
Universität Ulm

Angela Speidel
Aalen

2006

Amtierender Dekan: Prof. Dr. med. Klaus-Michael Debatin

1.Berichterstatter: Prof. Dr. med. W. Karges

2.Berichterstatter: PD Dr. med. F. Mottaghy

Tag der Promotion: 21.06.2007

Widmung

Für Christian

INHALTSVERZEICHNIS

Abkürzungsverzeichnis…… 5

1. Einleitung…… 7

1.1. Neuroendokrine Tumoren des Gastrointestinaltrakts…… 7

1.2. Prinzipien der Onkogenese…… 9

1.3. Kandidatengene für die Onkogenese neuroendokriner GEP-Tumoren…… 13

1.4. Hereditäre neuroendokrine Tumorsyndrome…… 14

1.5. Fragestellung…… 17

2. Material und Methoden…… 18

2.1. Prinzipien der systematischen Literaturrecherche in der evidenzbasierten Medizin... 18

2.2. Suchstrategien und -begriffe in der systematischen Literaturrecherche…… 19

2.3 Entwicklung von evidenzbasierten Empfehlungen…… 21

3. Ergebnisse…… 24

3.1. Chromosomenaberrationen bei NET des Gastrointestinaltrakts…… 24

3.2. Kandidatengene bei NET des Gastrointestinaltrakts…… 29

3.3. MEN1-Keimzellbahnmutationen bei hereditären NET des Gastrointestinaltrakts…… 35

3.4. MEN1-Mutationen in sporadischen NET des Gastrointestinaltrakts…… 37

4. Diskussion…… 41

4.1. Neuroendokrine Tumoren des GEP-Systems: Hereditär oder sporadisch?..... 41

4.2. Kandidatengene für neuroendokrine GEP-Tumoren und ihre Bedeutung in der Gendiagnostik…… 44

4.3. Ziele der Gendiagnostik…… 45

4.4. Prinzipien in der klinischen MEN1-Gendiagnostik…… 49

4.5. Ethische Perspektiven in der Gendiagnostik…… 54

5. Zusammenfassung…… 55

6. Literaturverzeichnis…… 56

7. Danksagung…… 74

8. Lebenslauf…… 75

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AP1	Aktivations-Protein-1-Komplex
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften
bp	Basenpaare
CDKN2	Tumorsuppressorgen: cyclin dependent kinase inhibitor type 2
CGA	Chromagranin A
CGH	komparative genomische Hybridisierung
CpG	Cytosin-Guanin-Dinukleotid
DPC4	Tumorsuppressorgen: Deleted in pancreatic carcinomas, locus 4
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EbM	evidenzbasierte Medizin
EDTA	Ethylendiamin-tetra-acetat
ERCP	Endoskopische retrograde Cholangiopankreatikographie
GEP	gastroenteropankreatisch
HER-2	Protoonkogen: human epidermal growthfactor (receptor2)
HVLA	Hypophysenvorderlappenadenome
KDa	Kilodalton
LOH	Loss of heterozygosity
MEN1	multiple endokrine Neoplasie Typ1
MRT	Magnetresonanz Tomographie
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NET	neuroendokrine Tumoren
NLS	Nuclear localization signals
NSE	Neuronspezifische Enolase

p53	Tumorsuppressorgen, dessen Produkt bei DNA-Schäden zum Anhalten des Zellzyklus in der G1-Phase und zur Apoptose führt
PCR	Polymerase Chain Reaction
pHPT	primärer Hyperparathyroidismus
PTH	Parathormon
RB	Retinoblastom
SDHD	Tumorsupressorgen: Sukzinatdehydrogenase-Gen
SIGN	Scottish Intercollegiate Guidelines Network
Smad4	Tumorsuppressorgen: Sma-and mad in homologous in man 4
SSCP-Analyse	single-strand DNA conformation polymorphism
VHL-Syndrom	Von Hippel Lindau-Syndrom
WHO	World-health-Organisation
ZES	Zollinger-Ellison-Syndrom

1. EINLEITUNG

1.1. Neuroendokrine Tumoren des Gastrointestinaltrakts

Neuroendokrine Tumoren (NET) des gastroenteropankreatischen Systems (GEP) sind seltene epitheliale Tumoren mit einer Inzidenz von 1-2/100 000 (Norton 1994; Hochwald et al. 2001). Die Bezeichnung neuroendokriner Tumor bezieht sich auf alle Tumoren, die sich aus dem neuroendokrinen Zellsystem entwickeln und phänotypisch den disseminierten neuroendokrinen Zellen zuzuordnen sind (Klöppel 1981; Klöppel 1995). Nach heute gültiger Definition umfasst dieses Zellsystem alle neuronalen und endokrinen Zellen mit gemeinsamen phänotypischen Merkmalen, zu denen die Expression von speziellen Markerproteinen und zelltyp-spezifischen Regulatorproteinen gehören (Heitz 1991). Neuroendokrine Tumoren treten in verschiedenen hormonaktiven und –inaktiven Organsystemen auf und beinhalten eine heterogene Gruppe von benignen oder malignen Neoplasien. Neben der Haut und den endokrinen Drüsen ist insbesondere das Gastrointestinalsystem betroffen.

Der erste Versuch einer Klassifikation von neuroendokrinen GEP-Tumoren erfolgte 1963 von Williams und Sandler. Die Tumoren wurden dabei ursprünglich unter Berücksichtigung ihrer embryonalen Entwicklung unterteilt in: Vorderdarm (*foregut:* Lunge, Magen, Duodenum proximal der Papilla Vateri, Pankreas), Mitteldarm (*midgut:* Duodenum distal der Papilla Vateri, Jejunum, Ileum, Appendix, Colon ascendens) und Enddarm (*hindgut:* Colon transversus, Colon desendens, Rektum) (Williams et al. 1963; Oberg 2002). Diese Klassifikation konnte sich jedoch in der täglichen Diagnostik nicht durchsetzen (Klöppel et al. 1996), da sie sich als zu ungenau für die Unterscheidung biologisch relevanter Tumorenitäten erwies.

Während in der Vergangenheit die Tumoren des neuroendokrinen Zellsystems des Gastrointestinaltraktes unter dem Oberbegriff „Karzinoide“ zusammengefasst wurden, wird in der aktuellen WHO-Klassifikation des Jahres 2000 der neutrale und umfassende Begriff des neuroendokrinen Tumors und des neuroendokrinen Karzinoms gewählt. Im Einzelnen wird dabei zwischen hoch differenzierten neuroendokrinen Tumoren, hoch differenzierten neuroendokrinen Karzinomen und schlecht differenzierten, meist kleinzelligen neuroendokrinen Karzinomen unterschieden (Solcia et al. 2000) (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: **World-health-Organisation (WHO) -Klassifikation (2000) zur histo-pathologischen Einteilung von neuro-endokrinen Tumoren des gastroenteropankreatischen (GEP)- Systems** (Solcia et al. 2000).

Klassifikation der neuroendokrinen Tumoren des GEP-Systems	
1a	Hoch differenzierter neuroendokriner Tumor: Benignes Verhalten oder fragliche Dignität
1b	Hoch differenziertes neuroendokrines Karzinom: Niedrig malignes Verhalten
2	Niedrig differenziertes neuroendokrines Karzinom: Hohe Malignität

In der klinischen Einteilung werden die in der praktischen Medizin relevanten Tumoreigenschaften berücksichtigt, indem zwischen funktionell aktiven und funktionell inaktiven Tumoren unterschieden wird. Dieses gilt sowohl für benigne als auch für maligne neuroendokrine Tumoren. Funktionell aktive Tumoren führen über eine unkontrollierte Hormonsekretion wie Insulin, Gastrin oder Glukagon, zu charakteristischen klinischen Syndromen. Die Symptomatik manifestiert sich im Wesentlichen durch die Sekretion der Hormone in die systemische Zirkulation und dem daraus entstehenden Hypersekretionssyndrom. Ursache für eine solche ungebremste, autonome Ausschüttung von Hormonen ist ein Speicherdefekt der Tumorzelle für das von ihr gebildete Hormon (Creutzfeldt et al. 1973; Creutzfeldt et al. 1975). Bei funktionell inaktiven Tumoren tritt entweder keine Hormonsekretion auf oder diese ist zu gering um klinische Symptome hervorzurufen (Plockinger et al. 2002). Daher werden die funktionell inaktiven Tumoren meist nur zufällig im Rahmen einer bildgebenden Diagnostik entdeckt oder führen durch ihr expansives Wachstum zu Beschwerden.

Charakteristisch für neuroendokrine Zellen ist die Expression spezifischer Genprodukte wie Synaptophysin, die neuronspezifische Enolase (NSE) und Chromagranin A (CGA) (Heitz 1991). Diese Proteine werden als immunhistologische Marker in der klinischen Diagnostik der GEP-NET erfolgreich eingesetzt.

Neuroendokrine Tumoren des GEP-Systems können hereditär im Rahmen eines familiären Tumorsyndroms auftreten. Dem MEN1-Syndrom (**m**ultiple **e**ndokrine **N**eoplasie Typ **1**) kommt dabei die größte Bedeutung zu. Diese Erkrankung ist klinisch durch die Manifestation neuroendokriner Tumoren an verschiedenen Organen charakterisiert (Marx et al. 1999; Pannett et al. 1999; Thakker 2000). Für diese hereditäre Tumorentwicklung ist eine Keimzellbahnmutation des MEN1-Tumorsuppressorgens verantwortlich (Chandrasekharappa et al. 1997; Marx et al. 1999).

Die sporadischen neuroendokrinen GEP-Tumoren treten dagegen wesentlich häufiger auf als die hereditären Tumoren. Es wurde jedoch ein enger kausaler Zusammenhang zwischen einer somatischen MEN1-Mutation, die nur im Tumorgewebe stattfindet, und der Entstehung eines neuroendokrinen Tumors festgestellt (Fujii et al. 1999; Mailman et al. 1999; Leotlela et al. 2003).

1.2. Prinzipien der Onkogenese

Die Entstehung von NET des GEP-Systems beruht auf den molekularbiologischen Grundlagen der Onkogenese, welche für alle Tumorerkrankungen gelten. Die Tumorentstehung ist das Ergebnis einer Akkumulation mehrerer unabhängiger Mutationen, die letztlich zum Kontrollverlust der Zellvermehrung führen (Vogelstein et al. 1993; Bodmer 1994). Veränderungen in der Erbsubstanz betreffen überwiegend solche Gene, die direkt oder indirekt die Proliferation, das Wachstum oder die Differenzierung der Zelle regulieren. Die für die Onkogenese benigner und maligner Tumoren verantwortlichen Gene, können dabei in (Proto-) Onkogene und Tumorsuppressorgene unterschieden werden (Leotlela et al. 2003).

Protoonkogene

Eine (Über-) Aktivierung von betreffenden Protoonkogenen, ausgelöst durch Punktmutationen, Amplifikationen und Translokationen, führt zur Entstehung von Onkogenen. Protoonkogene codieren Proteine, die für das physiologische Zellwachstum und den normal kontrollierten Zellzyklus zuständig sind. Mutationen und überexprimierte Versionen dieser Protoonkogenen codieren fehlerhafte und strukturell veränderte Proteine, welche zu einem Funktionsgewinn des Onkogens („gain of function“) führen und übermäßige neoplastische zelluläre Proliferationen zur Folge haben. Diese Veränderungen bewirken eine Steigerung der stimulatorischen Signale innerhalb der Zelle, ohne von außen welche zu empfangen. Damit wird die Umwandlung einer Normalzelle zu einer Tumorzelle eingeleitet.

Bei den Protoonkogenen genügt bereits die Mutation eines Allels um einen neoplastischen Phänotyp in den betroffenen Zellen auszulösen. Daher stammt auch die Bezeichnung *„dominantes Onkogen“* für die Charakterisierung der Protoonkogene. Mit Ausnahme des HER-2/neu Gens spielen nach heutigem Wissensstand Protoonkogene bei der Tumorgenese der neuroendokrinen Tumoren des GEP-Systems eine untergeordnete Rolle (Evers et al. 1994).

Tumorsuppressorgene

Die meisten erblichen Tumoren werden durch Störungen von Tumorsuppressorgenen charakterisiert. Diese Gene sind an der Regulation der Zellteilung beteiligt und inhibieren die Zellproliferation. Auf diese Weise hindern sie Neoplasien an ihrem Wachstum. Dagegen codieren mutierte Suppressorgene veränderte Proteine, welche ihre eigentliche Aufgabe, die Kontrolle der Zellteilung, nicht mehr ausführen können. Dieser Funktionsverlust der Tumorsuppressorgene *(„loss of function")* spielt eine bedeutende Rolle bei der Onkogenese vieler Tumoren. Die Veränderung nur eines Allels führt, im Gegensatz zu den Protoonkogenen, jedoch noch nicht zum Funktionsausfall des Genprodukts. Da es sich hierbei um einen rezessiven genetischen Modus handelt (*„rezessives Tumorsuppressorgen*), ist vielmehr die Inaktivierung beider Genkopien des Tumorsuppressorgens erforderlich (Weinberg 1991; Harrington et al. 1994; Tsatsanis et al. 2000).

Ein Mechanismus zur Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen wurde 1971 von Knudson formuliert. Dabei entwickelte er am Beispiel des Retinoblastomgens das genetische Konzept der sequenziellen Geninaktivierung (2-Hit-Konzept nach Knudson) (Knudson 1971).

Das 2-Hit-Konzept nach Knudson

Bei der von Knudson als die „two-hit-hypothesis of carcinogenesis" formulierten Hypothese, ist die Tumorentstehung durch zwei rezessive allelische Mutationen des Tumorsuppressorgens gekennzeichnet (siehe Abbildung 1). Ein bedeutendes Beispiel für diesen Genmechanismus stellt, neben dem Retinoblastom (Gallie et al. 1984; Phillips et al. 1984), auch das Tumorsuppressorgen MEN1 dar. Hier ist eine biallelische Inaktivierung für die Entstehung einer multiplen endokrinen Neoplasie (Typ1) verantwortlich (Thakker et al. 1989; Bystrom et al. 1990; Thakker 1993). Nach der ersten rezessiven Mutation des Tumorsuppressorgens entsteht ein heterozygoter Genotyp, bei dem die betroffenen Zellen einen Allelverlust aufzeigen. Das intakte zweite Allel kann dann, im Gegensatz zu dem Protoonkogen, die Kontrollfunktion des zellulären Wachstums in den Körperzellen alleine übernehmen, bis eine zweite Mutation des Allels in den somatischen Zellen erfolgt. Das zweite rezessive Mutationsereignis bewirkt den Verlust des verbliebenen funktionsfähigen heterozygoten Allels im Zielgewebe (Loss of heterozygotie, LOH): Die Kontrollfunktion des Tumorsuppressorgens geht dann verloren, da die für die Zellzykluskontrolle benötigten Proteine nicht mehr funktionsfähig synthetisiert werden und es durch unkontrolliertes Zellwachstum zur Tumorentstehung kommen kann (Knudson 1971; Marx et al. 1999; Leotlela et al. 2003).

Bei den typischen Fällen hereditärer Tumoren, wie beispielsweise dem Retinoblastom und dem MEN1-Syndrom, findet die erste Allelmutation der verantwortlichen Gene RB und MEN1 in der Keimzellbahn statt. Die zweite Allelmutation erfolgt dagegen nur in den betroffenen somatischen Zellen des Zielgewebes.

Im Gegensatz hierzu erfolgen bei den sporadischen Tumoren beide Allelmutationen in somatischen Körperzellen (Leotlela et al. 2003). Diese sporadische Tumorentstehung kommt im Vergleich zur Manifestation bei hereditärer Prädisposition wesentlich seltener vor und führt erst später zu einer Krankheitsmanifestation (Haber et al. 1998; Pannett et al. 2001).

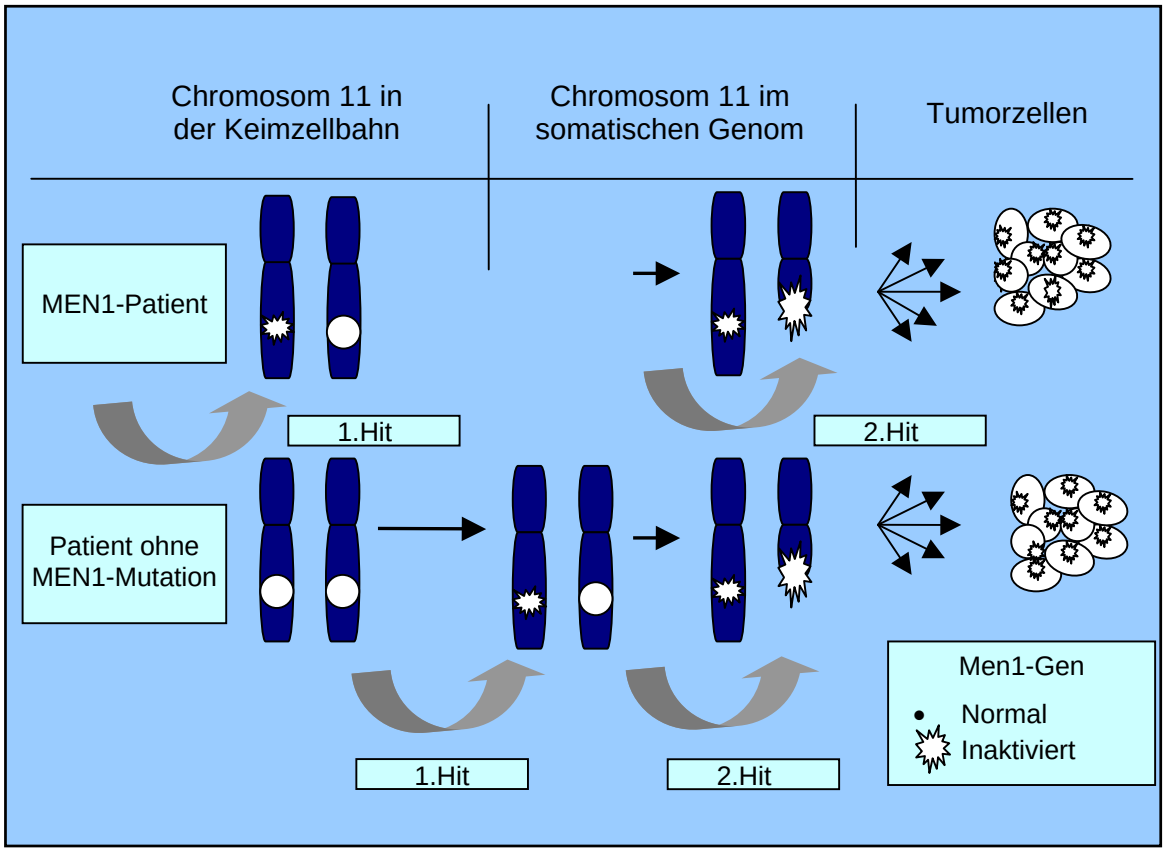


Abbildung 1: Graphische Darstellung des Inaktivierungsmechanismus von Tumorsuppressorgenen nach dem 2-Hit-Konzept von Knudson.
Bei MEN-1 Patienten und bei Patienten ohne Keimzellbahnmutation (nach Marx et al. 1999).
MEN1= multiple endokine Neoplasie Typ 1

Studienergebnisse konnten zeigen, dass der Verlust der Heterozygosität weitere genetische Veränderungen im Chromosomensatz zur Folge hat, da nach der zweiten rezessiven Mutation vermehrt kleinere Deletionen und Intragenetische- oder Punktmutationen im Genom beobachtet werden konnten (Lengauer et al. 1997).

Promotermethylierung und intragenetische Mutation

Neben der Theorie des „Verlust der Heterozygosität“ wurden weitere Mechanismen der Geninaktivierung bei zahlreichen Tumorsuppressorgenen beobachtet:
Hypermethylierung von Promotorregionen der Tumorsuppressorgene führen zur Ausschaltung ihrer Funktion. Hierbei wird ein Cytosin Baustein eines Cytosin-Guanin-Dinukleotid (CpG) mittels einer DNA-Methyltransferase hypermethyliert und führt durch nachfolgende Unterbindung der Transkription zur Progression der Tumorentwicklung.

Die Inaktivierung der Tumorsuppressorgene der CDKN2-Genfamilie, welche bei der Entstehung der GEP-NET involviert sind, erfolgt beispielsweise über diesen Mechanismus (House et al. 2003).

Weitere Inaktivierungsvorgänge von Tumorsuppressorgenen werden durch den Verlust und/ oder Gewinn von chromosomalem Material verursacht. Mit der Hilfe der komparativen genomischen Hybridisierung (CGH) werden diese Abberationen im Tumorgenom nachgewiesen. Bei den Untersuchungen zur genetischen Grundlage neuroendokriner GEP-Tumoren, konnte eine hohe Anzahl dieser chromosomalen Veränderungen beobachtet werden (Zhao et al. 2000; Kytola et al. 2001; Lollgen et al. 2001).

1.3. Kandidatengene für die Onkogenese neuroendokriner GEP-Tumoren

Dank des Fortschritts in der molekularen Genetik hat sich das Verständnis der genetischen Grundlagen der GEP-NET in den letzten Jahren erheblich erweitert. In der Entstehung sporadischer und hereditärer neuroendokriner GEP-Tumoren konnte insbesondere dem MEN1-Gen und seinem Genprodukt Menin eine große Bedeutung in der Onkogenese nachgewiesen werden. Weltweite Studien untersuchten neben dem MEN1-Gen ein breites Spektrum weiterer Kandidatengene um ihre Rolle in der Onkogenese der GEP-NET zu analysieren (Bartsch et al. 1999; Lubomierski et al. 2001). Inwieweit diese Kandidatengene in der klinischen Medizin von Bedeutung sind, steht im Fokus dieser Arbeit.

Die genetischen Ursachen der meisten hereditären GEP-NET konnten vor allem im Kontext der multiplen endokrinen Neoplasie und des MEN1-Tumorsuppressorgens identifiziert und aufgeklärt werden. Eine Arbeitsgruppe vom Karolinska–Institut in Stockholm entdeckte erstmals die Lokalisation des MEN1-Gens auf dem langen Arm des Chromosoms 11 (11q13) (Larsson et al. 1988). Erste Untersuchungen mittels komparativer Genanalyse von MEN1- assoziierten Tumoren mit polymorphen DNA Markern zeigten einen somatischen Verlust der Heterozygosität („Loss of heterozygosity“, LOH) im Bereich von 11q13. Larsson et al. stellten fest, dass es sich bei dem MEN1-Gen um ein Tumorsuppressorgen handelt (Larsson et al. 1988). Viele nachfolgende Studien bestätigten diese Ergebnisse (Marx et al. 1999; Thakker 2001; Leotlela et al. 2003; Agarwal et al. 2004).

Nach 10-jährigem genetischem und physikalischem Mapping gelang es schließlich Chandrasekharappa et al. 1997, das MEN1-Gen durch Positionsklonierung zu identifizieren. Das Gen, bestehend aus 10 Exons mit über 9 kb genomischer DNA, kodiert das Protein Menin (Chandrasekharappa et al. 1997): Dieses MEN1-Genprodukt umfasst 610 Aminosäurebausteinen und hat eine Größe von 67 Kda. Das erste Exon und die Basenpaare 1941 bis 2771 werden nicht übersetzt. Guru et al. gelang es anschließend zu demonstrieren, das sich der größte Teil des Proteins im Zellkern befindet (Guru et al. 1998). Durch Immunfluoreszenzanalysen wurden außerdem zwei voneinander unabhängige NLS (Nuclear Localization Signals) zwischen den Aminosäuren 479-497 (NLS-1) und 588-608 (NLS-2) am C-terminalen Viertel des Proteins identifiziert (Guru et al. 1998). Die nukleare Lokalisation lässt eine Reihe verschiedener Funktionen des Menins im Zellkern vermuten. Dazu gehört die Beteiligung als einer der Komponenten bei der transkriptionellen Regulation und der Stabilitätserhaltung des Genoms (Kaji et al. 2001; Namihira et al. 2002; Poisson et al. 2003; Agarwal et al. 2004). Eine kürzlich veröffentlichte Studie von Bertolino et al. zeigte, dass das Menin neben seiner Rolle als

Tumorsuppressorprotein auch eine bedeutende Rolle in der embryonalen Entwicklung multipler Organe spielt (Bertolino et al. 2003).

Eine Möglichkeit um sich der Funktion von Menin bei der Tumorentstehung klarer zu werden, war die Identifizierung von assoziierten Partnern des Genprodukts. Sowohl Experimente in vivo als auch in vitro bestätigten, dass Menin spezifisch an JunD bindet (Agarwal et al. 1999). JunD ist eine Komponente des AP-1 Komplexes, welcher in die Regulierung der Transkription und der Apoptose involviert ist. In mehreren Studien wurde anschließend deutlich, dass durch diese Menin– JunD Bindung eine JunD vermittelte Transkription unterdrückt wird (Agarwal et al. 1999; Gobl et al. 1999). Inzwischen ist es gelungen durch genetische Forschung am Mausmodell, weitere Interaktionspartner des Menins zu identifizieren. Dazu gehören neben Jun Proteinen (c-Jun, JunB und JunD), NFkappaB, Smad3 und andere Proteine, welche an der Transkription und der Regulierung des Zellwachstums beteiligt sind. Diese Interaktionspartner haben gemeinsam, dass sie inhibitorische Effekte auf das Zellwachstum zeigen und damit eine Tumorsuppressorfunktion ausüben (Mechta et al. 1997; Heppner et al. 2001; Kaji et al. 2001; Wautot et al. 2002). Auch neueste Studien konnten die Rolle von Menin in der transkriptionellen Regulation herausstellen, indem Wissenschaftler eine direkte Bindung von Menin an die DNA identifizierten (Hughes et al. 2004; La et al. 2004). Die Regulation des Zellwachstums ist ein komplexes Zusammenspiel verschiedenster Faktoren. Auf welche Weise die Menin- Interaktionen wirken und welche anschließenden Auswirkungen sie auf Zellwachstum und Transformation haben, ist trotz einer Vielzahl von Untersuchungen jedoch noch nicht ausreichend geklärt. (Thakker 2001; Schnepp et al. 2004; Sowa et al. 2004; Sowa et al. 2004).

1.4. Hereditäre neuroendokrine Tumorsyndrome

Hereditäre neuroendokrine Tumoren treten charakteristischerweise im Rahmen eines Tumorsyndroms auf. Die familiäre multiple endokrine Neoplasie (MEN1) stellt dabei die einzige relevante Differentialdiagnose der erblichen Syndrome bei neuroendokrinen GEP-Tumoren dar (Scherubl et al. 1996; Calender 2000; Grotzinger 2004). Die MEN ist ein klassisches Tumorsyndrom mit autosomal-dominanter Vererbung. Die Krankheit ist gekennzeichnet durch das multiple Auftreten meist benigner Tumoren in neuroendokrinen Organen. Zu den drei Hauptorganmanifestationen des MEN1-Syndroms zählen (Trump et al. 1996; Marx et al. 1999; Thakker 2001):

- primärer Hyperparathyroidismus, pHPT
- Hypophysenvorderlappenadenome, HVLA
- Gastroenteropankreatische Tumoren, GEP (Insulinome, Gastrinome, Glukagenome und Vipome)

Weniger häufig treten neuroendokrine Tumoren der Bronchien und des Thymus (Marx et al. 1998; Thakker 1998; Hao et al. 2004) auf. An nicht-neuroendokrinen Tumoren sind vereinzelt Meningeome, Astrozytome, Fasziale Angiofibrome, Kollagenome und Lipome bei MEN1- Patienten zu beobachten (Trump et al. 1996; Darling et al. 1997; Pack et al. 1998; Marx et al. 1999; Karges et al. 2003; Asgharian et al. 2004; Asgharian et al. 2004). In den MEN1 Populationen wird zudem eine wachsende Inzidenz von Leiomyomen des Ösophagus und des Uterus, Schilddrüsenneoplasien, fokal noduläre Hyperplasien der Leber und renalen Angiomyolipome registriert (Li-Fern et al. 1999; Vortmeyer et al. 1999; McKeeby et al. 2001). Die Pathogenese der nicht endokrinen Tumoren ist bisher noch weitgehend ungeklärt. MEN1- assoziierte Tumoren des Mittel- und Enddarms werden dagegen bei den GEP-Tumoren nur sehr selten beobachtet (Marx et al. 1999).

Die Abbildung 1 zeigt die Häufigkeitsverteilung der Organmanifestationen bei MEN1-Patienten am Beispiel eines deutschen Kollektivs. Die im Anschluss dargestellte Abbildung 2 veranschaulicht beispielhaft die unterschiedlichen Prävalenzen der auftretenden MEN1-Tumoren im GEP-System:

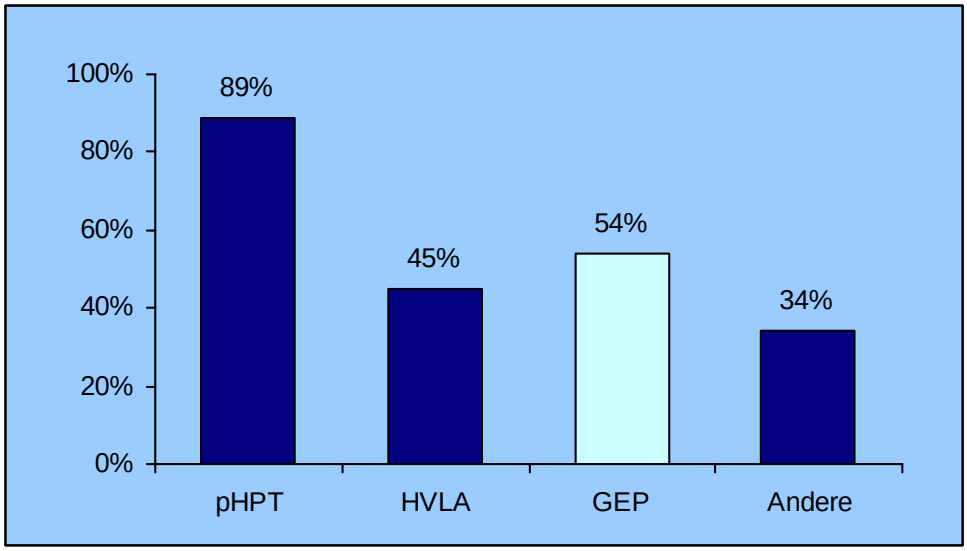


Abbildung 2: Graphische Darstellung zur Prävalenz der MEN1-Organmanifestationen.
Nach einem Kollektiv von 306 MEN1-Patienten (Karges et al. 2000).
pHPT= primärer Hyperparathyroidismus
HVLA= Hypophysenvorderlappenadenome,
GEP= gastroenteropankreatische Tumoren
MEN1= multiple endokrine Neoplasie Typ 1

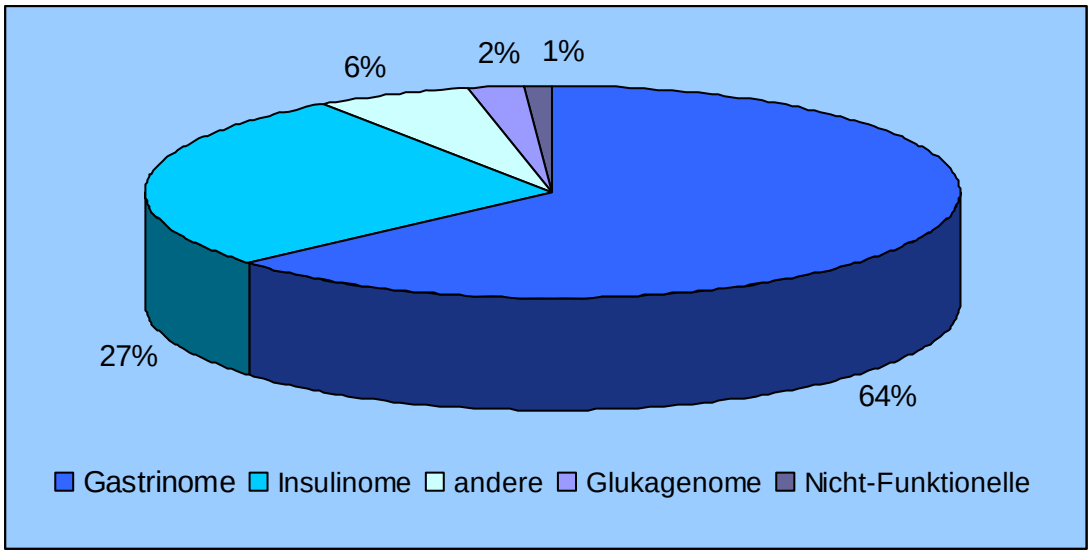


Abbildung 3: Graphische Darstellung zur Prävalenz der neuroendokrinen Tumor-manifestationen im Gastrointestinaltrakt (GEP-NET) . Nach Studienergebnissen von 89 MEN1-Patienten mit (GEP-NET) (Trump et al. 1996). MEN1= multiple endokrine Neoplasie Typ1

Das MEN1-Syndrom stellt eine seltene Erkrankung dar (Marx et al. 1998), welche auf Grundlage der autosomal-dominanten Vererbung beide Geschlechter gleich häufig betrifft. Es weist nach heutiger Kenntnis weder geographische noch ethnische Präferenzen auf. Die Erkrankung ist gekennzeichnet durch eine sehr hohe Penetranz (ca. 90%) mit der Konsequenz, dass fast alle Mutationsgenträger im Laufe des Lebens klinisch an einem MEN1-Syndrom erkranken (Chanson et al. 1997; Bassett et al. 1998; Doherty et al. 1998; Skogseid 2003). Bei MEN1-Patienten konnten in umfangreichen genetischen Untersuchungen bisher keine Korrelation zwischen dem klinischen Phänotyp und dem betroffenen Codon festgestellt werden (Goebel et al. 2000; Thakker 2001). Auch zeigt sich die Expression des Genotyps variabel: Bei den Mutationsträgern kann keine Vorhersage über die möglichen Organmanifestationen, den Schweregrad oder den zeitlichen Verlauf der Erkrankung getroffen werden (Marx et al. 1999; Kouvaraki et al. 2002). Keimzellbahnmutationen des MEN1-Gens werden in ca. 90% der Fälle vererbt, die verbleibenden 10% der MEN1-Patienten erkranken auf Grund von Neumutationen des MEN1-Gens in der Keimzellbahn (Marx et al. 1999; Calender 2000).

1.5. Fragestellung

Neue Perspektiven eröffnen sich in der klinischen Medizin durch die zunehmenden wissenschaftlichen und technischen Entwicklungen in der Molekulargenetik. Die Identifizierung relevanter Kandidatengene neuroendokriner Tumoren des Gastrointestinaltrakts erweiterte das Wissen zur Onkogenese dieser Tumoren erheblich. Dieser wissenschaftliche Fortschritt eröffnet den Betroffenen und ihren Angehörigen zum Teil große Chancen im Bereich der klinischen Betreuung und der prädikativen Gendiagnostik. Eine große Bedeutung erlangt dabei die Aufstellung und fortlaufende Aktualisierung von Leitlinien zur Qualitätssicherung.

Ziel dieser Arbeit ist es, mit Hilfe einer systematischen Literaturrecherche und einer Evaluation der verfügbaren Evidenz, das Fundament für eine evidenzbasierte Empfehlung zu bilden. Dabei liegt der Fokus der Arbeit in der Charakterisierung relevanter Kandidatengene für die Onkogenese von neuroendokrinen Tumoren des Gastrointestinaltrakts (GEP-NET) und ihre klinische Bedeutung. Evidenzbasierten Empfehlungen sollen zu einem besseren klinischen Management der Patienten mit neuroendokrinen GEP-Tumoren beitragen, da sich durch die Verfügbarkeit der Gendiagnostik die medizinische Betreuung nachhaltig verändert hat.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Prinzipien der systematischen Literaturrecherche in der evidenzbasierten Medizin

Eine Literaturrecherche ist mehr als eine ungezielte Suche nach Information im Internet oder das Aufsuchen einer Bibliothek. Vielmehr handelt es sich dabei um einen systematischen Suchprozess mit strukturiertem Weg. Hinsichtlich der Vorhergehensweise kann die Literaturrecherche grob in vier Phasen eingeteilt werden. Folgende Abbildung veranschaulicht diesen Prozess.

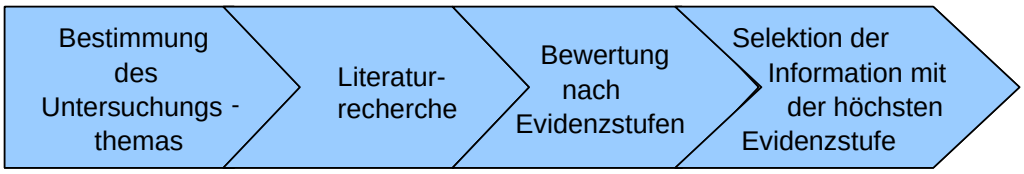


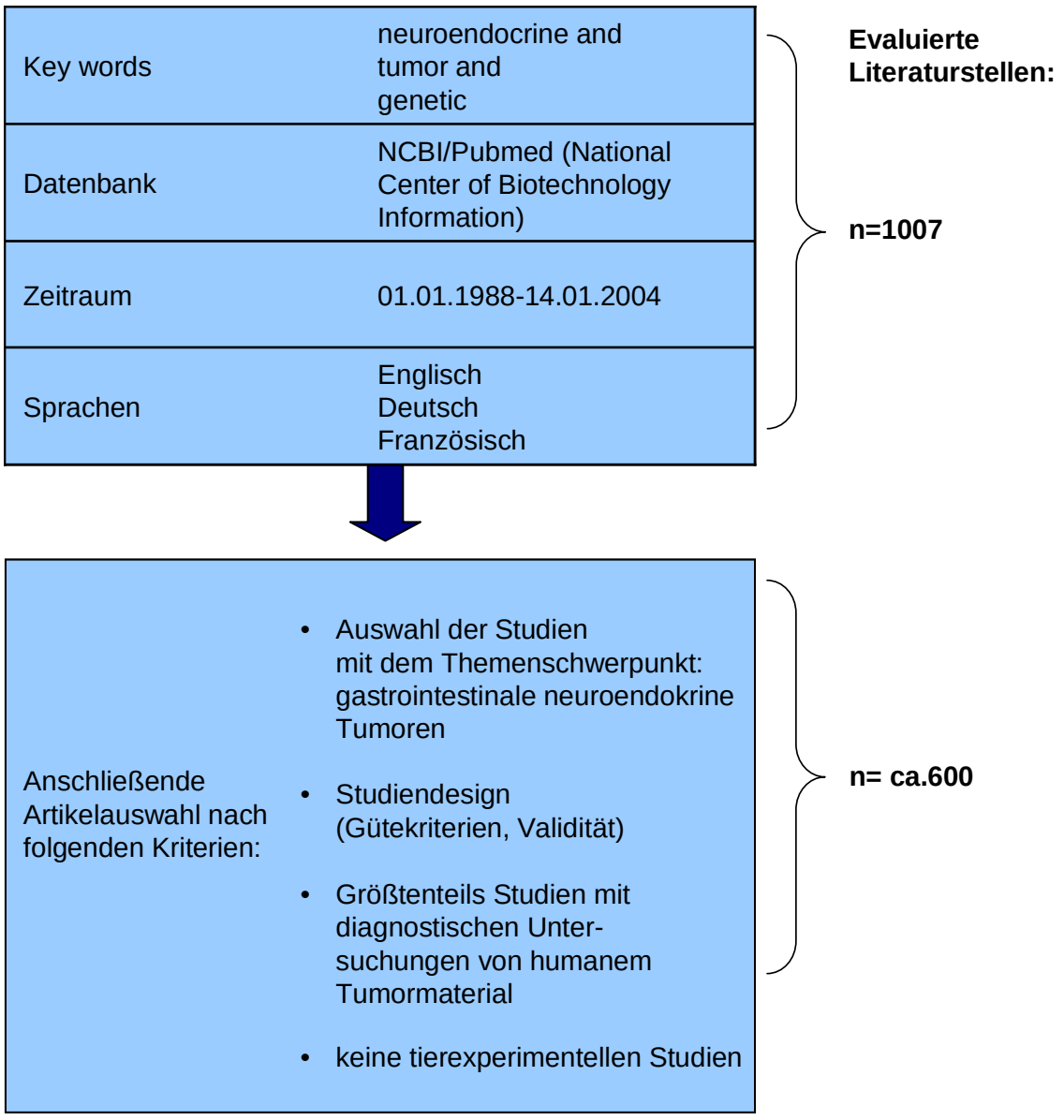
Abbildung 4: Der Suchprozess im Überblick

In der ersten Phase wird der Untersuchungsgegenstand bestimmt. Hierfür sollten präzise Vorstellungen und Fragestellungen zum Thema der Informationssuche vorliegen (Sackett et al. 1998). Die zweite Phase umfasst die eigentliche Literaturrecherche. Als wichtige Voraussetzung zur strukturierten Informationsbeschaffung gilt der schnelle Zugang zu aktuellen Informationsmedien und Grundkenntnisse in deren Anwendung. Die Lektüre von Lehrbüchern und Artikeln ist eher als insuffizient zu bewerten, da diese meist veraltet sind. Auch die unsystematische Suche per Hand in Fachzeitschriften ist eine mühsame und zeitaufwendige Angelegenheit. Für den Erwerb von aktuellsten Informationen stellt daher die Online Recherche in elektronischen Literaturdatenbanken die beste Möglichkeit dar, wobei die elektronische Datenbank NCBI/PubMed eine weit verbreitete Anwendung findet. Diese ist eine von der US-Amerikanischen National Library of Medicine kostenlos bereitgestellte elektronische Datenbank, mit tausenden von biomedizinischen Zeitschriften. Neben den bibliographischen Angaben enthält NCBI/PubMed „Abstracts“ der Publikationen. Die dritte und vierte Phase beschreiben den Prozess des kritischen Lesens. Dabei müssen die bei der Recherche gefundenen Informationen einer formalen und inhaltlichen Bewertung unterzogen werden (Woolf 1992; Mulrow 1994).

2.2. Suchstrategien und -begriffe in der systematischen Literaturrecherche

Um die relevante Literatur zu dem gewählten Untersuchungsthema zu erfassen, ist die Durchführung einer systematischen Suchstrategie notwendig und von hoher Bedeutung. Diesbezüglich wurde in dieser Arbeit mit Hilfe der elektronischen Datenbank NCBI/PubMed für den Zeitraum von 1988 bis 2004 eine Literaturrecherche zu dem Thema „molekulare und klinische Genetik neuroendokriner Tumoren des Gastrointestinaltrakts“ durchgeführt. Aus diesem Untersuchungsthema lassen sich so genannte key words (Schlüsselbegriffe) für die systematische Literatursuche ableiten. Diese Schlüsselbegriffe stehen am Ende eines jeden „Abstracts“ und repräsentieren den Inhalt des jeweiligen Artikels. Von der „Qualität“ der key words hängt ein großer Teil des Sucherfolgs ab. Durch Verknüpfung mit den Bool′schen Operatoren „and“, „or“ sowie „not“ kann eine Suche eingegrenzt bzw. erweitert werden. Bei der Literaturrecherche dieser Dissertationsarbeit wurden die Schlüsselbegriffe „neuroendocrine“ , „tumor“ und „genetics“ mit dem „and“- Operator verknüpft. Die Schnittmengen dieser Begriffe wurden als Suchergebnisse in der Literaturdatenbank angezeigt. Um aus der großen Auswahl der gesichteten Arbeiten eine gute Selektion zu erhalten, wurden die gefundenen Artikel anschließend anhand verschiedener Auswahlkriterien (siehe Tabelle 2) auf Relevanz geprüft. In der nachstehenden Tabelle wird die Vorgehensweise der Suchstrategie für diese Arbeit zusammengefasst:

Tabelle 2: **Überblick über das Schema der systematischen Literaturrecherche und Anzahl der evaluierten Literaturstellen**



Bei der Fertigstellung der Dissertationsarbeit wurden die Ergebnisse der Literaturrecherche durch weiterführende Literatur ergänzt, welche zur vollständigen Abhandlung der Thematik beitragen. Des Weiteren findet eine sukzessive Aktualisierung der relevanten Daten statt.

2.3. Entwicklung von evidenzbasierten Empfehlungen

Das Konzept der evidenzbasierten Medizin (EbM) hat mit erheblichem Rückstand gegenüber anderen Ländern auch in Deutschland Einzug im ärztlichen Alltag gehalten. Die zentrale Aufgabe der evidenzbasierten Medizin ist die Entscheidungsunterstützung bei der Behandlung individueller Patienten gemäß der gegenwärtig besten wissenschaftlichen Evidenz (AWMF 2000; Ollenschläger 2000). Bei dem Begriff „Evidenz“ handelt es sich um einen aus dem Englischen stammenden Begriff, welcher für den Nachweis bzw. den Beweis von Informationen aus wissenschaftlichen Studien steht (Helou et al. 2000).

Die evidenzbasierte Medizin zielt darauf ab, klinisch tätigen Ärzten den Umgang mit medizinischer Literatur, dessen kritischer Bewertung und deren Anwendung bei der medizinischen Versorgung individueller Patienten zu vereinfachen (Sackett et al. 1996; Helou et al. 2000).

Evaluation und Bewertung der gesichteten Literaturstellen

Nur wenige wissenschaftliche Arbeiten erfüllen die Qualitätsanforderungen, welche für die EbM notwendig sind. Die Qualität der Evidenz hängt im Wesentlichen von der methodischen Güte der zugrunde liegenden Studien ab. Um die unterschiedlichen Studien nach Typ und methodischer Qualität unterscheiden zu können, findet zunächst eine Klassifizierung der Studien nach so genannten Evidenzstufen statt (Hadorn et al. 1996). Unter Evidenzstufen versteht man die hierarchische Einteilung der Aussagekraft einzelner Studien hinsichtlich ihrer Validität. Die Hierarchie der Evidenz ist in Abbildung 5 dargestellt. An deren Spitze stehen die systematischen Reviews und randomisierten klinischen Studien. Am niedrigsten werden Experten-Aussagen bewertet, die damit auf der untersten Stufe angesiedelt sind.

Da diese Einteilung keine Einschätzung der klinischen Relevanz erlaubt, erfolgt eine zusätzliche Einstufung der Evidenzklassen nach so genannten Empfehlungsklassen bzw. Härtegraden nach den Kriterien der SIGN (siehe Abbildung 5) (SIGN 2001). Eine solche Einteilung dient der Bewertung der Studien. Diese erfolgt zum einen nach der klinischen Relevanz für das ausgewählte Thema, zum anderen nach formalen und inhaltlichen Qualitätskriterien. Auch wird die Konsistenz der Ergebnisse, insbesondere die Reproduzierbarkeit und Homogenität der bewerteten wissenschaftlichen und klinischen Belege berücksichtigt (Guyatt et al. 1993; Jaeschke et al. 1994; Guyatt et al. 1995).

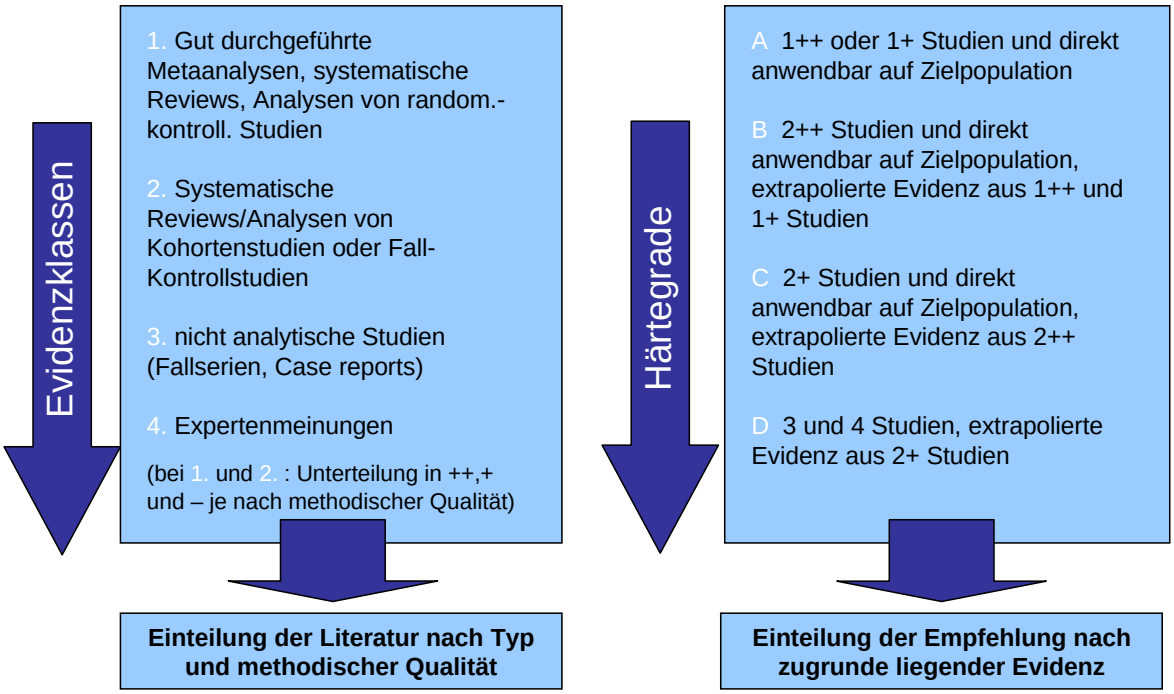


Abbildung 5: Einteilung der relevanten Literatur in Evidenzklassen und Härtegrade (nach SIGN 2001). SIGN= Scottish Intercollegiate Guidelines Network

Erstellung einer evidenzbasierten Empfehlung

Nachdem die relevante Literatur in Evidenzklassen und Härtegrade evaluiert wurde, erfolgt stufenweise die Erstellung einer evidenzbasierten Empfehlung mit Hilfe von etablierten Kriterien zur Konsensus-Vorgehensweise (Helou 1999; Helou 2000; Harbour et al. 2001) Diese systematisch entwickelte Leitlinie liefert Ärzten und Patienten eine Orientierungs- und Entscheidungshilfe für medizinische Maßnahmen unter charakteristischen klinischen Umständen (Müller 1996; AWMF 2000). Zu diesem Zweck vereinigen sich Experten unterschiedlicher Arbeitsgruppen und Fachbereiche zu einer interdisziplinären Leitlinienkommission.

In diesem sukzessiven Prozess der Leitlinienentwicklung erfolgt zunächst die Erstellung von „drafts“ (Rohentwürfen) aus den Kernaussagen der gesichteten und bewerteten Literatur. Anschließend finden Konsolidierungstreffen der Experten zur Diskussion der Rohentwürfe statt, wobei neben der wissenschaftlichen Evidenz vor allem auch die klinische Erfahrung der Experten integriert wird. Danach werden die Rohentwürfe in erweiterten Foren vorgestellt. Hierzu sind Fachsymposien, Fachzeitschriften oder Internetplattformen zur kritischen Kommentierung der Ergebnisse („draft peer review Konsultation“) zu nennen. Änderungen und Korrekturen der Rohentwürfe werden daraufhin vorgenommen. Abschließend wird eine klinisch relevante,

evidenzbasierte Leitlinie formuliert, welche nun der Öffentlichkeit oder bestimmten Fachkreisen vorgestellt wird. Diese Leitlinie wird ständig aktualisiert und dem medizinischen Wissensstand angepasst. Im Gegensatz zu Richtlinien sind diese für Ärzte nicht bindend, jedoch stellen sie häufig Vorstufen für juristisch verbindliche Richtlinien dar (Bachmann 1997).

In dieser Arbeit wurde relevante Literatur zum Thema „molekulare und klinische Genetik neuroendokriner Tumoren des Gastrointestinaltrakts“ gesichtet und evaluiert. Die stufenweise Entwicklung von evidenzbasierten Empfehlungen wird in folgender Abbildung veranschaulicht:

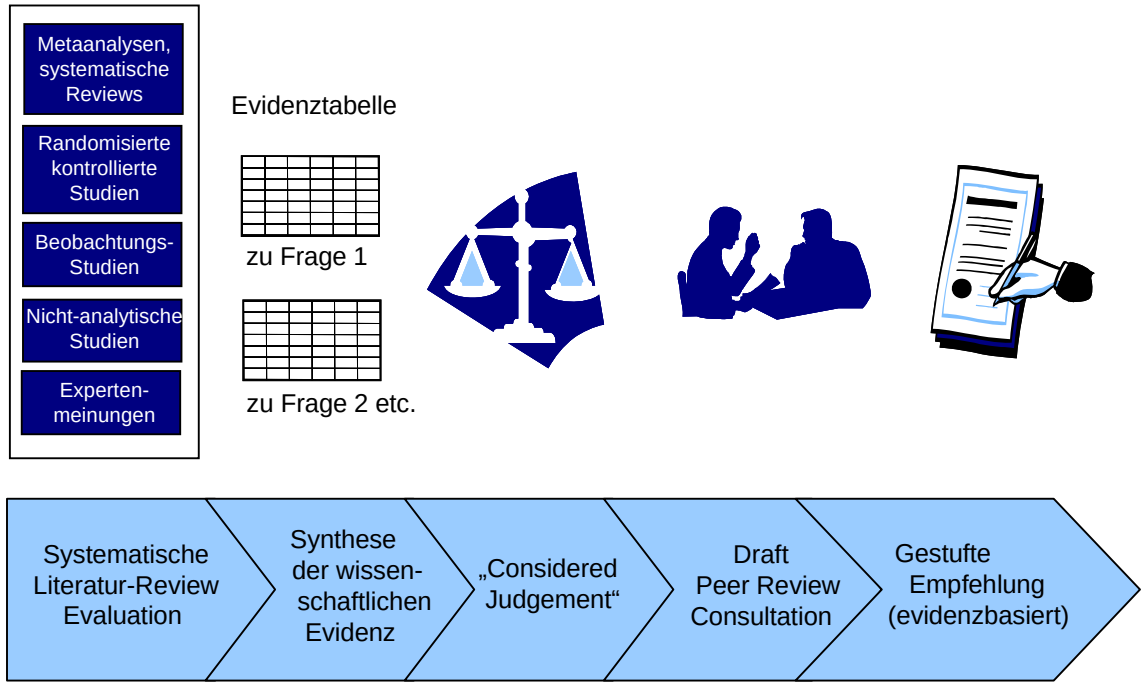


Abbildung 6: Stufenweise Entwicklung von evidenzbasierten Empfehlungen (nach SIGN, 2001). Nach der Evaluation der relevanten Literatur, werden in der Leitlinienkommission die wissenschaftlichen Literaturergebnisse bewertet, wobei der neu entstandene „draft“ (Rohentwurf) in einer weiteren Fachgruppe diskutiert wird. Im Laufe dieses Prozess entsteht schrittweise eine gestufte evidenzbasierte Empfehlung. SIGN= Scottish Intercollegiate Guidelines Network

3. ERGEBNISSE

3.1. Chromosomenaberrationen bei NET des Gastrointestinaltrakts

Größere chromosomale Verluste oder Gewinne innerhalb des Tumorgenoms werden bei zahlreichen, insbesondere malignen Neoplasien beobachtet (Solomon et al. 1991). Die Detektierung der Chromosomenaberrationen erfolgt mit Hilfe der komparativen genomischen Hybridisierung (CGH). CGH ist eine zytogenetische Methode zur Identifizierung chromosomaler Abberationen, wie beispielsweise Veränderung der Kopienzahl ganzer Chromosome oder Teilstücke und genomischen Amplifikationen/ Deletionen. Tumoren gleichen Ursprungsgewebes wie Vorderdarm- oder Mitteldarmgewebe zeigen häufig ähnliche chromosomale Verluste oder Gewinne. Dies verstärkt den Verdacht, dass noch nicht charakterisierte Kandidatengene auf den häufig deletierten Chromosomenabschnitten beherbergt sein können.

Chromosomale Deletionen von Chromosom 3 und Chromosom 18 wurden häufig bei neuroendokrinen Tumoren im GEP-System gefunden, hierzu liegen ausführliche Untersuchungsergebnisse zahlreicher Forschungsgruppen vor:

Chromosom 3 Deletionen

Zahlreiche Studiengruppen deckten bei genetischen Untersuchungen von pankreatischen NET einen Verlust der Heterozygosität von Chromosom 3 auf: Barghorn et al. ermittelten bei 47 der 82 (57%) untersuchten Patienten mit pankreatischen NET einen allelischen Verlust von Chromosom 3p. Insbesondere zeigten die LOH-Analysen bei den malignen Tumoren eine hohe Prävalenz der chromosomalen Verluste (70% der malignen versus 28% der benignen) (Barghorn et al. 2001). Ähnliche Studienergebnisse beobachteten Chung et al., eine Arbeitsgruppe aus Bosten. Diese untersuchte 43 Patienten mit endokrinem Pankreastumor, von welchen 14 (33%) einen allelischen Verlust auf dem Genlocus 3p zeigten. Bei den Untersuchungen wurde eine deutliche Korrelation zwischen Verlust von genetischem Material und Malignität des Tumors beobachtet: 12 der 21 (57%) malignen Tumoren wiesen einen LOH bei 3p auf. Dagegen konnten bei den benignen in nur 9 der 22 (9%) Pankreastumoren ein LOH bei 3p gesichtet werden (Chung et al. 1997).

Auch die Arbeitsgruppe von Guo et al. beschäftigte sich mit der molekularen Genetik neuroendokriner Pankreastumoren. Die Wissenschaftler untersuchten 8 maligne und 8 benigne Tumoren: Bei 4 (50%) der malignen Tumoren konnte ein LOH Verlust auf Chromosom 3 identifiziert werden, während keiner der benignen Tumoren eine chromosomale Veränderung aufzeigte (Guo et al. 2002).

Die Untersuchungen von Nikiforova et al. zur Onkogenese von neuroendokrinen Pankreastumoren bestätigen die Ergebnisse ihrer Kollegen. Sie beobachteten allelische Verluste von Chromosom 3p bei 8 von 15 (53%) benignen und 5 von 6 (83%) malignen Pankreastumoren (Nikiforova et al. 1999).

Diese Studienergebnisse der verschiedenen Forschungsgruppen sprechen für die Existenz noch unbekannter Kandidatengene an den Genloci von Chromosom 3, welche eine wichtige Rolle bei der Progression und malignen Transformation von malignen Vorderdarmtumoren spielen könnten. Folgende Diagramme zeigen eine Ergebnisübersicht der verschiedenen Studiengruppen hinsichtlich der LOH-Analyse von Chromosom 3.

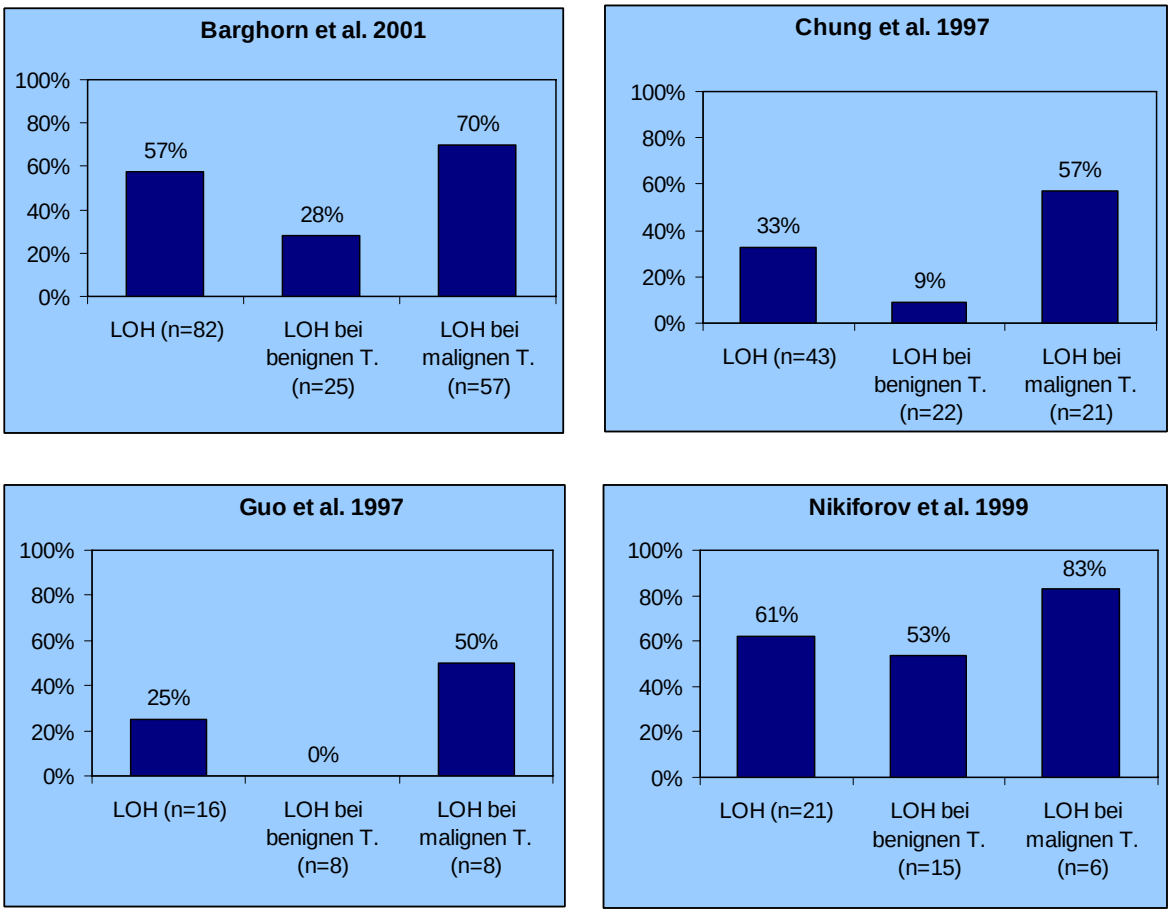


Abbildung 7: Darstellung verschiedener Studienergebnisse zu dem Verlust der Heterozygosität von Chromosom 3 bei neuroendokrinen Pankreastumoren
(Barghorn et al. 2001, Chung et al. 1997, Guo et al. 1997, Nikiforova et al. 1999).
N= Anzahl der untersuchten Tumoren, T= Tumoren, LOH = Loss of heterozygosity (Verlust der Heterozygosität)

In den Abbildungen wird besonders deutlich, dass alle Studien eine hohe Korrelation zwischen Verlust von genetischem Material und Malignität des Tumors aufweisen: Bei den klinisch malignen und metastasierten NET des Pankreas wurde doppelt so häufig eine 3p Chromosomendeletion entdeckt, verglichen mit benignen NET des Pankreas (Chung et al. 1997; Nikiforova et al. 1999; Barghorn et al. 2001; Guo et al. 2002).

Ebenfalls auf Chromosom 3 befindet sich das Tumorsuppressorgen VHL, lokalisiert auf 3p25-26 (Latif et al. 1993). Chromosomale Verluste oder Mutationen dieses Gens stellen eine Tumordisposition für das monogenetische **v**on **H**ippel **L**indau Syndrom dar. 12% der Patienten mit diesem Syndrom weisen in einer Studie neuroendokrine Tumoren des Pankreas auf (Hammel et al. 2000). Hingegen konnte bis jetzt keine Assoziation zwischen sporadischen pankreatischen NET und gehäuftem chromosomalen Verlust des Tumorsuppressorgens VHL entdeckt werden (Chung et al. 1997; Nikiforova et al. 1999; Barghorn et al. 2001; Guo et al. 2002).

Chromosom 18 Deletionen

Tumoren des Mitteldarms zeigen selten einen allelischen Verlust von Chromosom 3, vielmehr wird hier ein gehäufter chromosomaler Verlust von Chromosom 18 beobachtet. Arbeitsgruppen, welche sich mit der Onkogense von neuroendokrinen Mitteldarmtumoren beschäftigen, identifizierten an Hand von CGH-Analysen bei 67%-88% der untersuchten Tumorproben Deletionen von Chromosom 18 (Zhao et al. 2000; Kytola et al. 2001; Lollgen et al. 2001). Die dazu veröffentlichten Studienergebnisse von Lollgen et al., Kytola et al. und Zhao et al. werden in folgendem Diagramm veranschaulicht:

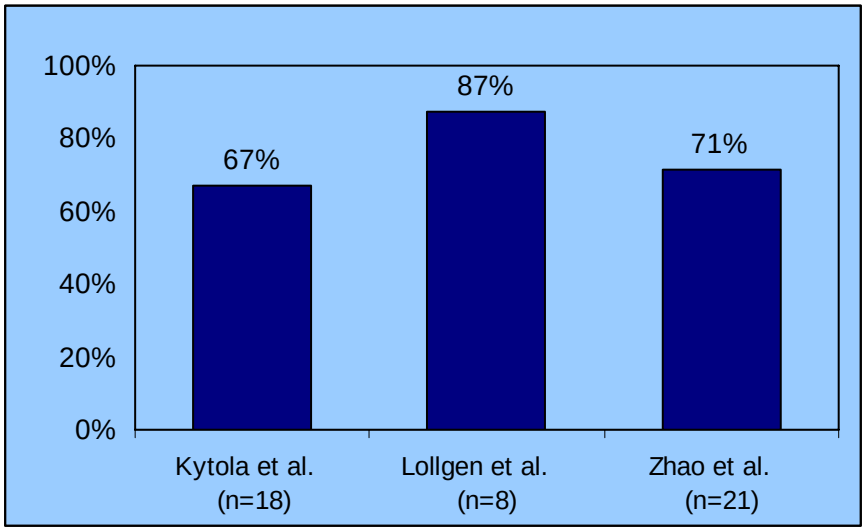


Abbildung 8: Studienergebnisse der CGH-Analysen zu Prävalenz von Chromosom 18 Deletionen in neuroendokrinen Mitteldarmtumoren (Kytola et a. 2001, Lollgen et al. 2001, Zhao et al. 2000).
N= Anzahl der untersuchten Tumoren, CGH= komparative genomische Hybridisierung

Diese Forschungsergebnisse deuten auf eine Involvierung von Chromosom 18 bei der Tumorgenese von Mitteldarmtumoren hin, und gehen mit der Vermutung, dass noch weitere nicht charakterisierte Tumorsuppressorgene auf diesem Chromosom existieren einher. Das DPC4/Smad4-Gen befindet sich ebenfalls auf dem Chromosom 18. Auf seinem Chromosomenarm (18q21) wurden zahlreiche Genanalysen von Mitteldarmtumoren durchgeführt. Eine Beteiligung dieses Tumorsuppressorgens, bei der Onkogenese von Mitteldarmtumoren konnte jedoch nahezu ausgeschlossen werden, da weder Mutationen noch Deletionen auf diesem Genlocus identifiziert wurden (Lollgen et al. 2001).

Chromosomale Verluste und Gewinne von Vorder- und Mitteldarmtumoren

Mit der komparativen genomischen Hybridisierung (CGH) konnten bei neuroendokrinen Vorderdarm- und Mitteldarmtumoren Überrepräsentationen und Amplifikationen auf folgenden Chromosomen aufgedeckt werden: 1p, 2q, 3p, 4q, 5, 6q, 7, 9p, 11q, 14, 16p, 17, 19p und 20q. Eine Übersicht der Studienergebnissen von Tonnies et al. und Terris et al. mit den Prävalenzen der Chromosomenaberrationen wird in den nachfolgenden Abbildungen dargestellt (Terris et al. 1998; Tonnies et al. 2001):

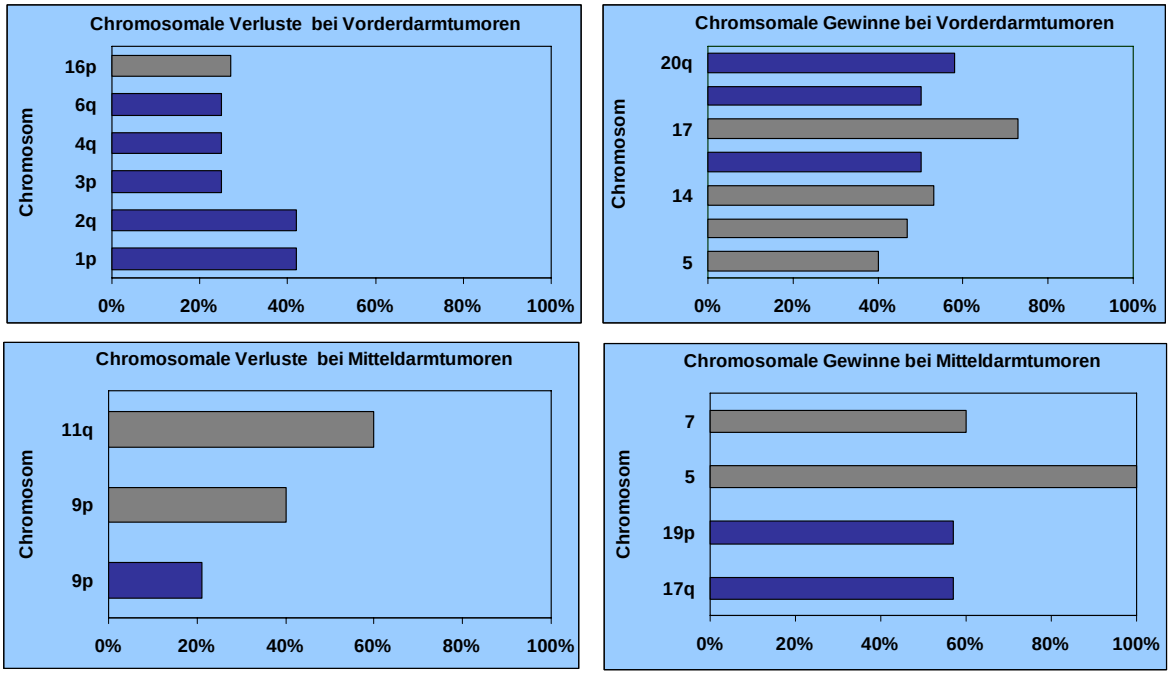


Abbildung 9: Studienergebnisse der CGH-Analysen zu der Prävalenz von verschiedenen Chromosomenabberationen in neuroendokrinem Tumorgewebe des Gastrointestinaltrakts
(Terris et al. 1998; Tonnies et al. 2001).
Anzahl der NET bei der Studie von Tonnies et. al.: 12 Vorderdarmtumore; 14 Mitteldarmtumore.
Anzahl der NET bei der Studie von Terries et al.: 15 Vorderdarmtumore ; 5 Mitteldarmtumore
CGH = komparative genomische Hybridisierung

Eine Interpretation dieser Ergebnisse gestaltet sich als schwierig, daher ist es fraglich inwieweit diese Chromosomenaberrationen eine Rolle bei der Onkogenese von Vorderdarm- und Mitteldarmtumoren spielen. Auf Grund der hohen Anzahl der beobachteten chromosomalen Veränderungen und der Inhomogenität in einzelnen Patientengruppen und Tumoren, kann eine Differenzierung zwischen primären und sekundären genetischen Veränderungen nicht sicher vorgenommen werden (Lollgen et al. 2001).

3.2. Kandidatengene bei NET des Gastrointestinaltrakts

Zahlreiche Studiengruppen untersuchen ein breites Spektrum an Kandidatengene um ihre Bedeutung in der Onkogenese von NET im GEP-System aufzuklären. Im Fokus dieser Untersuchungsreihen steht das Verständnis der molekularen Pathogenese dieser Tumoren zu erweitern und daraus mögliche Konsequenzen für Diagnostikverfahren und Therapieansätze abzuleiten. Folgende Tabelle gibt zuerst einen Überblick der wichtigsten Kandidatengene und ihrer Lokalisation, anschließend werden die jeweiligen Studienergebnisse vorgestellt.

Tabelle 3: Übersicht über mögliche Kandidatengene und ihre chromosomale Lokalisation

Gen	Typ	Genlocus
MEN1	Tumorsuppressor	11q13
DPC4/Smad4	Tumorsuppressor	18q21
CDKN2	Tumorsuppressor	9p21
SDHD	Tumorsuppressor	11q23
p53	Tumorsuppressor	17p13.1
RB	Tumorsuppressor	13q14
HER-2/neu	Protoonkogen	17q21

DPC4/Smad4

Smad4, ursprünglich DPC4 genannt (für **d**eleted in **p**ancreatic **c**arcinomas locus **4**), ist ein Kandidaten-Tumorsuppressorgen, welches in Pankreas- und kolorektalen Tumoren häufig inaktiviert vorkommt (Hahn et al. 1996; He et al. 1998; Bartsch et al. 1999; Chiao et al. 1999). Der Genlocus befindet sich auf dem Chromosomenabschnitt 18q21. Das Smad4-Protein spielt eine zentrale Rolle bei der Signaltransduktion nach Aktivierung der entsprechenden Rezeptoren durch TGF (Transforming Growth Factor)-ß-ähnliche Liganden (Shioda et al. 1998).

Anhand molekularbiologischer Untersuchungen zur Onkogenese von Pankreaskarzinomen konnten genetische Veränderungen auf dem Chromosomenabschnitt im Bereich 18q21 gefunden werden: Hahn et al. von der Maryland Universität identifizierte bei 23 von 35 (64%) Pankreaskarzinomen mindestens

eine homozygote Deletion auf dem DPC4/Smad4 Genlocus (Hahn et al. 1996). Auch eine Studiengruppe an der Philipps Universität in Marburg untersuchte mit Hilfe einer SSCP-Analyse 25 endokrine Pankreaskarzinome mit unterschiedlicher Funktionalität (11 Insulinome, 9 hormoninaktive Karzinome, 3 Gastrinome und 2 Vipome) auf eine Mutation am COOH-Ende des DPC4/Smad4 Genlocus. Sie erhielten ähnliche Ergebnisse wie Hahn et al.: 5 von 9 (55%) hormoninaktiven Pankreaskarzinomen zeigten auf dem Genlocus von DPC4/Smad4 Punktmutationen, kleine intragenetische oder homozygote Deletionen (Bartsch et al. 1999). Dagegen konnten in dieser Studie weder bei Insulinomen, noch bei Gastrinomen oder Vipomen, Mutationen auf dem DPC4/Smad4-Genlocus gesichtet werden (Bartsch et al. 1999). Diese Studienergebnisse lassen daher vermuten, dass dem DPC4/Smad4-Tumorsuppressorgen vor allem eine Bedeutung bei der Onkogenese maligner neuroendokriner Pankreaskarzinome zukommt.

CDKN2-Genfamilie

Die CDKN2-Genfamilie (**c**yclin **d**ependent **k**inase **in**hibitor, type **2**), lokalisiert auf Chromosom 9p21, bildet einen Komplex aus Tumorsuppressorgenen (CDKN2A/p16, CDKN2B/p15, CDKN2D/p14). Die Erforschung dieser Genfamilie und ihr Einfluss auf die Onkogenese der GEP-Tumoren sind Gegenstand vieler Studien. Grund hierfür ist eine häufige Interaktion der Genprodukte von CDKN2A und CDKN2D, mit den, an der Onkogenese vieler Karzinome beteiligten, Suppressorgenen p53 und RB (Stone et al. 1995; Lubomierski et al. 2001). Bei molekulargenetischen Untersuchungsreihen zu neuroendokrinen Tumoren im GEP-System wurden häufig Geninaktivierungen der CDKN2-Tumorsuppressorgene beobachtet: Die deutsche Arbeitsgruppe von Lubomierski et al. untersuchten am Genlocus der CDKN2-Genfamilie, 37 primär neuroendokrine GEP-Tumoren mittels RT-PCR-Analyse, davon 9 Gastrinome, 10 Insulinome, 9 Dünndarmkarzinoide, 7 Pankreastumoren und 2 Metastasen.

Die häufigste Geninaktivierung zeigten hormoninaktive Pankreastumoren (4 von 7; 57%), gefolgt von den Dünndarmkarzinoiden (4 von 9; 44%). Seltener wurde ein Verlust der Transkription in Insulinomen (3 von 10; 30%) und Gastrinomen (2 von 9; 22%) festgestellt. Die zwei Metastasen konnten auf dem Genlocus keine Genveränderungen aufweisen (Lubomierski et al. 2001). Bei den beschriebenen Prävalenzen der Geninaktivierung handelt es sich um mindestens einen Expressionsverlust der Tumorsuppressorgene CDKN2A/p16, CDKN2B/p15 oder CDKN2D/p14. Der Expressionsverlust der CDKN2-Gene erfolgte entweder auf Grund von Geninaktivierung durch Promotermethylierung der 5'-CpG Inseln oder homozygoter Deletion. Folgende Abbildung veranschaulicht die Ergebnisse von Lubomierski et al..

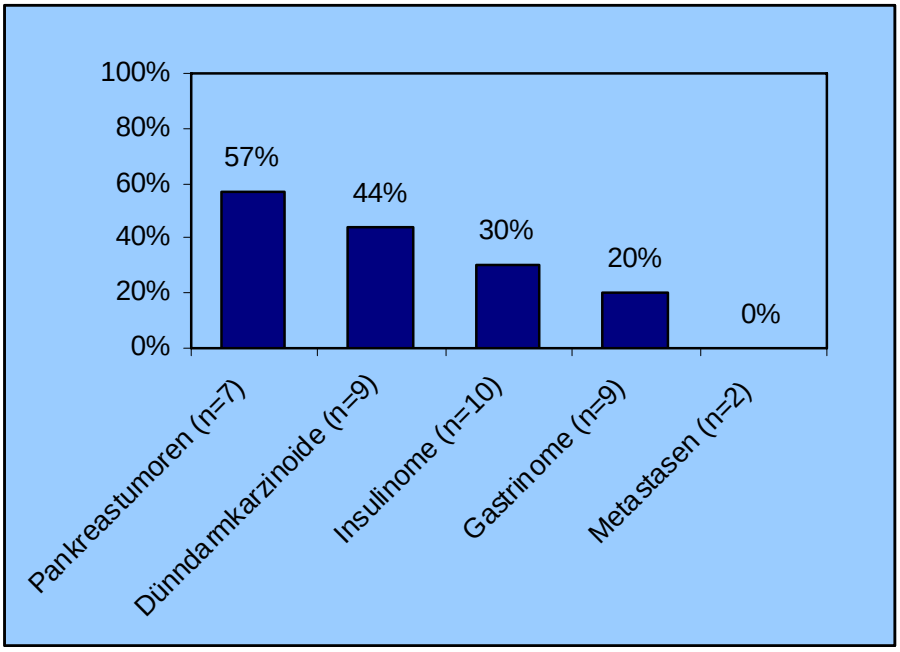


Abbildung 10: Studienergebnisse zur Prävalenz der CDKN2-Geninaktivierung. Nach einer Untersuchungsreihe von 37 neuroendokrinen Tumoren des Gastrointestinaltrakts
(Lubomierski et al. 2001). N= Anzahl der Tumoren

In einer von Muscarella et al. veröffentlichten Untersuchungsreihe zu genetischen Alterationen von 12 Gastrinomen und neuroendokrinen Pankreastumoren zeigte sich folgendes Ergebnis: Auf dem Genlocus von CDKN2A/p16/MTS1 konnte in 42% der Tumoren eine homozygote Deletion und in 58% eine Hypermethylierung beobachtet werden. Insgesamt wiesen 92% der Tumoren inaktive Genalterationen auf. Jedoch zeigte keine der Tumorproben eine Mutation auf diesem Genlocus (Mulrow 1994). Eine weitere Studie von Serrano et al. aus dem Jahre 2000 verstärkt die mögliche Rolle des CDKN2A/p16 Gens bei der molekularen Pathogenese von Gastrinomen. Von 44 untersuchten sporadischen Gastrinomen zeigten 23 (52%) eine Hypermethylierung von 5'-CpG Inseln des Promotergens p16INK4a/CDKN2A (Serrano et al. 2000).

Bei Untersuchungen zur Onkogenese von sporadischen Mitteldarmtumoren wurde ebenfalls eine vermehrte Inaktivierung der CDKN2-Tumorsuppressorgene beobachtet: Chan et al. identifizierten eine Hypermethylierung der Genloci von CDKN2A/p16 in 4 (25%) und von CDKN2D/p14 in 7 (44%) der 16 Mitteldarmtumoren (Chan et al. 2003). Im Vergleich dazu zeigten pankreatische NET in dieser Studie nur bei einem der 11 (9%) Tumoren eine Hypermethylierung am Genlocus von CDKN2A/p16 bzw. CDKN2D/p14 (Chan et al. 2003).

Diese Studienresultate geben Hinweise darauf, dass die Tumorsuppressorgene der CDKN2-Genfamilie in GEP-NET Ziele der Inaktivierung sind und somit in der Progression und malignen Transformation eine mögliche Rolle spielen.

Zusammenfassend kann man feststellen, dass bei Gastrinomen gehäuft ein Expressionsverlust von CDKN2A/p16 und bei Mitteldarmtumoren von CDKN2A/p16 und CDKN2D/p14 beobachtet wurde. Für Pankreastumore liegen unterschiedliche Studienresultate vor, so dass man bei der Beurteilung über die Bedeutung der CDKN2-Gene in der Onkogenese dieser Tumoren sehr vorsichtig sein sollte.

SDHD

Das Tumorsuppressorgen SDHD (Untereinheit des **S**ukzinat**d**e**h**ydrogenase-Gens) befindet sich in der Nähe des Genlocus von MEN1 am distalen Arm des Chromosoms 11 (11q23). In der Wissenschaft ist es bekannt durch seine Assoziation mit dem hereditärem Paragangliom (Baysal et al. 2000; Badenhop et al. 2001).

Eine Gruppe aus Stockholm untersuchte im Rahmen einer Studie die molekulare Pathogenese von Mitteldarmtumoren: In 5 von 8 (62%) Mitteldarmtumoren wurde am SDHD-Genlocus ein Verlust der Heterozygotie („loss of heterozygosity“, LOH) beobachtet. Außerdem konnte bei 2 der 8 (25%) Mitteldarmtumoren eine SDHD-Genmutation identifiziert werden, beide Mutationen waren mit dem LOH des anderen Allels assoziiert (Kytola et al. 2002).

Dagegen wurde in einer schweizer Studie von 45 NET der Lunge, des Gastrointestinaltrakts, des Pankreas und der Nebenschildrüse keine einzige SDHD-Mutation nachgewiesen (Perren et al. 2002). Diese Ergebnisse sprechen folglich eher gegen eine Beteiligung des SDHD-Gens in der Tumorgenese von GEP-NET. Es ist daher fraglich, ob es sich bei den gefundenen Genveränderungen der Mitteldarmtumoren um Mutationen mit Krankheitsassoziation oder um Polymorphismen handelt. Um den Einfluss des SDHD-Gens in der Onkogenese von Mitteldarmtumoren besser beurteilen zu können sind weiterführende Studien nötig.

p53

p53 ist ein Tumorsuppressorgen, aufgebaut aus einem **53** kD großen **P**hosphoproteinkomplex, dessen Genlocus sich auf dem kurzen Arm des Chromosoms 17 (17p13.1) befindet (Benchimol et al. 1985). Mutationen des gut erforschten Tumorsuppressorgens p53 werden in nahezu der Hälfte aller Tumorarten beobachtet (Hollstein et al. 1991). Das Gen spielt besonders in der Onkogenese gastrointestinaler Adenokarzinome eine bedeutende Rolle (Lohmann et al. 1993).

Lohmann et al. untersuchten daraufhin 33 gastrointestinale Karzinoide und 7 endokrine Pankreastumoren mit Hilfe einer SSCP-Analyse auf eine Alteration am p53-Genlocus. Das Ergebnis zeigte, dass nur bei einem rektalen Karzinoid eine Genmutation auf diesem Genlocus festgestellt werden konnte. Auch weitere Studien identifizierten keine gehäuften p53-Mutationen, weder bei benignen noch malignen NET des Pankreas wie auch in keinen anderen NET Zelllinien (Lohmann et al. 1993; Bartz et al. 1996). Auch ein Zusammenhang zwischen einer Überexpression von p53 und dem Auftreten von GEP-NET konnte bisher nicht beschrieben werden (Wang et al. 1995). Die Bedeutung des Tumorsuppressorgens p53 in der Onkogenese der NET des GEP-Systems schätzt man den Untersuchungsergebnissen zur Folge als gering ein.

RB

Das RB (Retinoblastom)-Tumorsuppressorgen, lokalisiert auf 13q14, ist verantwortlich für die Entstehung des Retinoblastoms, ein im Kindesalter auftretender embryonaler Tumor (Francke et al. 1976; Gallie et al. 1984). Das Retinoblastomgen spielt jedoch auch bei der Onkogenese verschiedener Tumorarten wie Osteosarkome, Karzinome der Mamma (Bieche et al. 2000), der Harnblase und der Lunge eine entscheidende Rolle (Dano et al. 2000; Hiroshima et al. 2004). Aufgrund dieser Tatsache schloss sich die Frage an, ob eine RB-Genmutation möglicherweise auch bei der Tumorentstehung der NET des GEP-Systems eine Bedeutung erlangt. In einer großen Untersuchungsserie von 46 endokrinen Pankreastumoren konnte jedoch kein einziger allelischer Verlust des Retinoblastomgens nachgewiesen werden (Chung et al. 1997). Daher sprechen diese Ergebnisse wahrscheinlich gegen eine Involvierung des Tumorsuppressorgens RB in der Pathogenese von pankreatischen NET.

HER-2/neu

Die HER-2/neu-Gene sind Protoonkogene und auf dem Chromosomenabschnitt 17q21 lokalisiert. Dabei handelt es sich um Gene, die für Rezeptoren mit Tyrosin-Kinase-Aktivität kodieren (Alroy et al. 1997; Rubin et al. 2001). Die Bedeutung von HER-2/neu wurde vor allem für die Tumorgenese von Brust- und Ovarialtumoren, sowie für Adenokarzinomen der Lunge und des Magens beschrieben (Stern et al. 1986; Berger et al. 1988; Weiner et al. 1990; Tsugawa et al. 1993; Yarden 2001). Studienergebnisse über die Beteiligung von HER-2/neu an der Onkogenese neuroendokriner GEP-Tumoren waren lange Zeit selten zu finden (Evers et al. 1992). Daraufhin untersuchte 1994 eine Arbeitsgruppe aus Texas, USA 12 Gastrinome auf genetische Amplifikationen des HER-2/neu Gens. Das Ergebnis zeigte bei allen Tumorproben eine Amplifikationen am Genlocus von HER-2/neu. Im Vergleich dazu wurden bei gesunden Gewebeproben von Pankreas und Ileum keine Genveränderungen auf diesem Chromosomenabschnitt gefunden (Evers et al. 1994) Diese Studienresultate könnten eine mögliche Beteiligung des HER-2/neu-Gens in der Onkogenese von Gastrinomen vermuten lassen.

Im Jahre 2002 veröffentlichten Goebel et al. ihre Studienergebnisse zu Amplfikationen von HER-2/neu bei Gastrinomen, welche die Vermutungen von Evers et al. jedoch nicht bestätigen konnten: Bei einem großen Patientenkollektiv von 43 untersuchten Gastrinomen konnten bei nur 6 Tumorproben milde HER-2/neu Genamplifikationen identifiziert werden. Diesen Untersuchungsergebnissen zur Folge ist die Involvierung des HER-2/neu Gens bei der Onkogenese der Gastrinome als gering einzuschätzen (Goebel et al. 2002). Jedoch wurde in der Studie eine positive Korrelation zwischen HER2/neu-Genamplifikationen und aggressiver Wachstumstendenz beobachtet.

3.3. MEN1-Keimzellbahnmutationen bei hereditären NET des Gastrointestinaltrakts

Die Keimzellbahnmutation des MEN1-Gens stellt die wichtigste molekulargenetische Grundlage der hereditären neuroendokrinen Tumorentwicklung im GEP-System dar. Bis heute wurden in weltweiten Studien über 600 verschiedene Keimzellbahnmutationen des MEN1-Gens beschrieben, die über die gesamte kodierende Gensequenz lokalisiert sind (Agarwal et al. 1997; Bassett et al. 1998; Pannett et al. 1999). Es konnten bisher keine regionalen Häufungen der Mutationslokalisation, so genannte „hot spots“ identifiziert werden (Marx et al. 1999; Thakker 2001; Kouvaraki et al. 2002; Turner et al. 2002). Bei molekulargenetischen Untersuchungen der Keimzellbahnmutationen konnte eine Vielzahl von unterschiedlichen Mutationsmechanismen wie Frameshift, Nonsense, Missense, Inframe oder Splice site beobachtet werden. Turner et al. untersuchte die MEN1-Genlokalisationen von 34 nicht miteinander verwandten MEN1-Patienten auf das unterschiedlich häufige Auftreten der verschiedenen Mutationsformen. Folgende Abbildung veranschaulicht seine Ergebnisse:

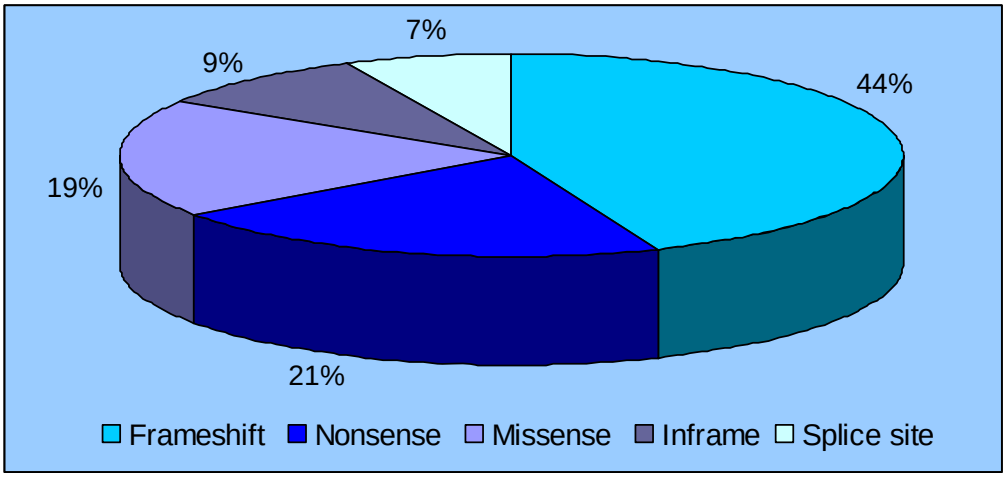


Abbildung 11: Verschiedene Mutationsmechanismen und ihre beobachtete Prävalenz.
Nach einer Untersuchungsreihe von 34 MEN1-Patienten (Turner et al. 2002).
MEN1= multiple endokrine Neoplasie Typ1

In der Entstehung von neuroendokrinen Tumoren ist für das MEN1-Gen eine kausale Rolle gesichert. In einem sehr großen Kollektiv von MEN1-Patienten in Deutschland konnte gezeigt werden, dass die neuroendokrinen Tumoren im GEP-System mit 54,2% die zweithäufigste Organmanifestation der multiplen endokrinen Neoplasie (MEN1) darstellen (Karges et al. 2000). Davon bilden die Gastrinome mit 20,9% den größten Anteil der GEP-NET (Karges et al. 2000), gleich gefolgt von den Insulinomen mit 17,3% (Karges et al. 2000). Das Leitsymptom der Gastrinome ist das Zollinger-Ellison Syndrom (ZES) (Chiao et al.). Aufgrund der relativ hohen Prävalenz der Gastrinome sollte daher bei jedem Patienten mit ZES eine Erkrankung im Rahmen eines MEN1-Syndroms in Erwägung gezogen werden (Jensen 1998; Serrano et al. 2000).

Andere Länder bestätigten mit ihren Untersuchungen die Ergebnisse des deutschen Kollektivs: Die Arbeitsgruppe von Marx et al. aus Maryland, USA stellten bei 62% der betroffenen MEN1-Patienten einen NET im GEP-System fest. Davon waren 40% der MEN1-Patienten an einem Gastrinom erkrankt und 10% zeigten Symptome eines Insulinoms (Marx et al. 1998). Auch Trump erhielt mit seiner groß angelegten Studie von 220 MEN1-Patienten ähnliche Prävalenzen der neuroendokrinen Tumoren: Bei 40,5% der Patienten konnte ein Tumor im GEP-System gesichtet werden (Trump et al. 1996).

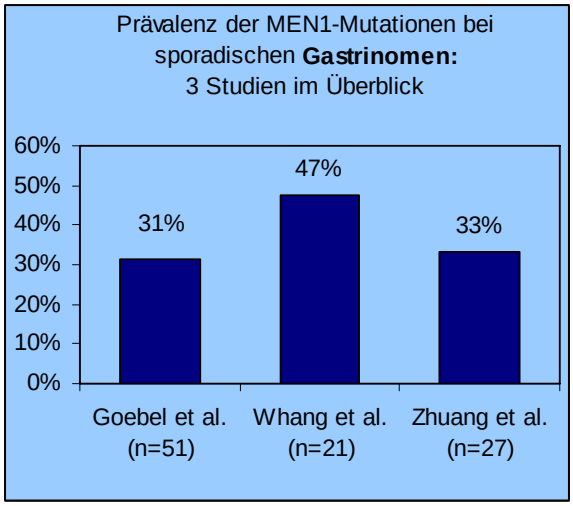
Bei umgekehrter Fragestellung, wie viele Patienten mit gesichertem neuroendokrinem Tumor des GEP-Systems eine MEN1-Keimbahnmutation aufweisen, differieren die Expertenmeinungen. Eine Forschungsgruppe aus Frankreich untersuchte 130 Patienten mit neuroendokrinem Tumor. Fünf dieser Patienten zeigten zwei MEN1-typische Tumoren und erfüllten damit die Vorraussetzung zur Genmutationsanalyse. Von den zwei Betroffenen konnte jedoch in nur einem Fall eine MEN1-Genmutation identifiziert werden (Baudin et al. 1999). Unter Verwendung dieser Studienergebnisse gibt Baudin die Wahrscheinlichkeit eines MEN1-Syndroms bei NET mit weniger als 1% an (Baudin et al. 1999). Andere Wissenschaftler vermuten dagegen eine weitaus höhere Prävalenzrate. Sie geben die a priori Wahrscheinlichkeit eines MEN1-Syndroms bei einem neuroendokrinem Tumor im GEP-System zwischen 10-40% an (Marx et al. 1999; Karges et al. 2000; Brandi et al. 2001). Ursachen für die sehr unterschiedlichen Experten-Einschätzungen liegen zum einen an einem Mangel von groß angelegten systematischen Studien. Zum anderen ist anzunehmen, dass der prozentuale Anteil der MEN1-Patienten wesentlich von der Auswahl der Patienten und der Behandlungseinrichtung (Zentrum versus Allgemeinversorgung) abhängt. Dadurch erhält man verzerrte Ergebnisse, welche nicht auf die Gesamtbevölkerung übertragbar sind.

3.4. MEN1-Mutationen in sporadischen NET des Gastrointestinaltrakts

Neuroendokrine Tumoren des GEP-Systems treten sehr viel öfter sporadisch auf als im Rahmen eines MEN1-Syndroms. Der molekulargenetischen Grundlage der Onkogenese dieser Tumoren liegt aber häufig eine somatische Mutation des MEN1-Gens zugrunde. Beispielsweise wurde in Insulinomen und Gastrinomen keine Mutation anderer Kandidatengene häufiger gefunden als die des MEN1-Gens (Hessman et al. 1998; Shan et al. 1998; Wang et al. 1998; Fujii et al. 1999). Da diese Genmutation jedoch nur im somatischen Tumorgewebe und nicht in der Keimzellbahn stattfindet, sind folglich von der MEN1-Mutation nur die Tumorzellen betroffen.

Die Inaktivierung des MEN1-Gens kann entweder durch einen allelischen Verlust der Heterozygosität (Loss of heterozygotie, LOH) des Chromosoms 11q13 oder durch eine MEN1-Genmutation erfolgen (Toliat et al. 1997; Zhuang et al. 1997; Hessman et al. 1998; Pannett et al. 1999). Eine Geninaktivierung durch Methylierung, wie bei einigen Tumorsuppressorgenen nachgewiesen, konnte dagegen bei den MEN1-Genen nicht beobachtet werden (Marx et al. 1999; Hessman et al. 2001).

Verschiedene Studien untersuchten sporadische neuroendokrine Tumoren des GEP-Systems mit Hilfe der SSCP-Mutationsanalyse auf das Vorkommen von MEN1-Genmutationen. Abhängig von der Lokalisation und Funktionalität des Tumors entdeckten sie dabei unterschiedliche Prävalenzen der MEN1-Mutationen: In einer Studie von Zhung et al. konnte bei 9 von 27 (33%) Gastrinomen und bei 2 von 12 (16%) Insulinomen eine MEN1-Mutation festgestellt werden (Zhuang et al. 1997). Auch in einer Untersuchungsreihe von Wang et al. wurden bei 10 von 21 (47%) sporadischen Gastrinomen eine MEN1-Mutation nachgewiesen (Wang et al. 1998). Ähnliche Ergebnisse veröffentlichte Goebel et al. im Jahr 2000: Bei diesen zeigten 16 der 51 (31%) untersuchten Gastrinome eine Mutation auf dem MEN1-Genlocus (Goebel et al. 2000).
Im Gegensatz hierzu entdeckte die Arbeitsgruppe von Shan et al. und Fujii et al. bei den sporadischen Insulinomen eine relativ schwache Prävalenz von MEN1-Mutationen: Bei nur einem von vier (25%) (Shan et al. 1998) bzw. zwei von sechs (33%) (Fujii et al. 1999) Insulinomen, wurde eine MEN1-Mutation beobachtet. In folgenden Abbildungen sind die Untersuchungsergebnisse der Studiengruppen über MEN1-Genmutationen in sporadischen Gastrinomen und Insulinomen zusammenfassend dargestellt:



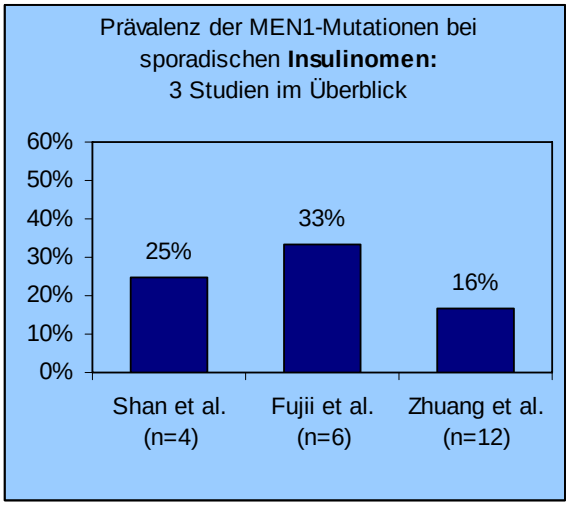


Abbildung 12: Graphische Darstellung der verschiedenen Studienergebnisse zur Prävalenz von MEN1-Mutationen in sporadischen Gastrinomen und Insulinomen (Goebel et al. 2000, Fujii et al. 1999, Shan et al. 1998, Wang et al. 1998 und Zhuang et al. 1997).
N= Anzahl der Patienten, MEN1= multiple endokrine Neoplasie Typ1

Bei den sporadischen NET des GEP-Systems traten die nachgewiesenen MEN1-Mutationen meist in Kombination mit einer allelischen Deletion des MEN1-Genlocus auf: Eine allelische MEN1-Gen Deletion konnte in einer Untersuchungsreihe von Zhuang et al. in 25 von 27 (93%) sporadischen Gastrinomen sowie in 6 von 12 (50%) sporadischen Insulinomen nachgewiesen werden (Zhuang et al. 1997). Folgendes Diagramm veranschaulicht die Ergebnisse von Zhuang et al. Hierbei wird verdeutlicht, wie häufig ein Verlust der Heterozygosität (Loss of heterozygosity, LOH) des MEN1-Gens im Vergleich zu einer MEN1-Mutation bei sporadischen Gastrinomen und Insulinomen beobachtet wurde.

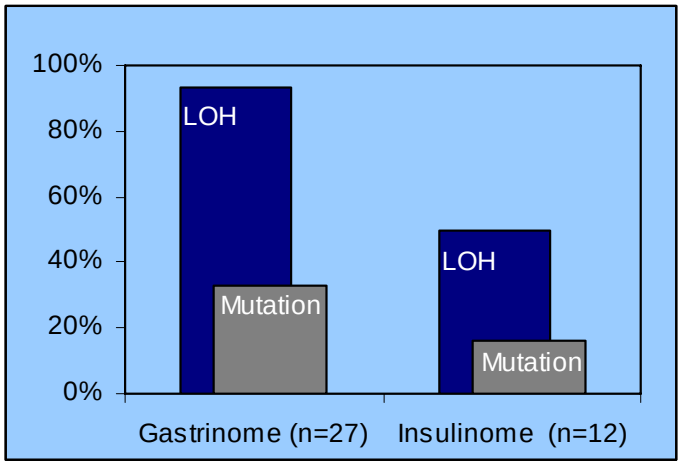


Abbildung 13: Vergleich der Prävalenz zu einem Verlust der Heterozygosität und einer MEN1-Mutation bei sporadischen Gastrinomen und Insulinomen (Zhuang et al. 1997).
N= Anzahl der Tumoren, LOH=Loss of heterozygosity (Verlust der Heterozygosität)

Eine weitere Studiengruppe um Görtz et al. zeigte nicht ganz so deutliche Resultate wie Zhuang et al.: Bei 13 der 30 (43,3%) untersuchten NET des GEP-Systems wurde hier eine MEN1-Gendeletion gesichtet (Gortz et al. 1999). Beide Studien haben aber gemeinsam, dass die Prävalenz von allelischen Verlusten des MEN1-Genlocus generell 2-4 fach höher ist als die der MEN1-Mutationsrate (Gortz et al. 1999; Zhuang et al. 1997). Dieser Befund weist auf eine mögliche Rolle weiterer Tumorsuppressorgene in der chromosomalen Region von 11q13 oder auf noch nicht identifizierte Mechanismen der Inaktivierung des MEN1-Gens hin.

Dagegen konnten genetische Deletionen des Chromosoms 11q13 oder MEN1-Mutationen in NET des Jejunums/ Ileums, Kolons und Rektums bisher nicht, oder nur in wenigen Fällen nachgewiesen werden (Toliat et al. 1997; Fujii et al. 1999; Gortz et al. 1999; Leotlela et al. 2003). Daher geht man davon aus, dass sich die molekulare Onkogenese bei den NET des Vorderdarms wesentlich von denen des Mittel- und Hinterdarms unterscheidet. Für die Pathogenese dieser Tumorerkrankungen sind andere Kandidatengene von Relevanz. Im Fokus zahlreicher Studienreihen ist die Erweiterung des Wissens der molekularbiologischen Mechanismen der Tumorenstehung von GEP-NET, dabei steht die Genanalyse mit der Suche nach möglichen Kandidatengene im Mittelpunkt der Forschungen. Im vorigen Abschnitt wurden die relevanten Ergebnisse der dazu weltweit durchgeführten Untersuchungen vorgestellt. Nachfolgende Tabelle zeigt nun eine Übersicht der untersuchten Kandidatengenen und ihrer klinischen Relevanz:

Tabelle 4: Kandidatengene bei neuroendokrinen Tumoren (NET) des Gastrointestinaltrakts- Überblick der Studienergebnisse

Gen	Tumorlokalisation	Häufigkeit genetischer Veränderungen	Klinischer Stellenwert	Referenz
MEN1	Pankreas, Magen, Duodenum, andere (Vorderdarm)	Bei MEN1-assoziierten NET >90%	Sehr hoch: relevant für individuelles Management und Familienscreening	Agarwal et al. 1997 Wautot et al. 2002
MEN1	Pankreas, Magen, Duodenum, andere (Vorderdarm)	Bei sporadischen Gastrinomen bis zu 47% Bei sporadischen Insulinomen bis zu 33% LOH bis zu 93%	Gering	Wang et al. 1998, Fujii et al. 1999 Zhuang et al. 1997
DPC4/Smad4	Maligne Pankreas NET	Einzelfälle: Genmutationen bis zu 55% Homozygote Deletionen bis zu 64%	Kein	Bartsch et al. 1999 Hahn et al. 1996
SDHD	Dünndarm	Einzelfälle: Genmutationen bis zu 25% LOH in 62% der Fälle	Kein	Kyotola et al. 2002 Perren et al. 2002
CDKN2-Genfamilie	Dünndarm, Pankreas	Einzelfälle: Bei Gastrinomen: bis zu 52% Bei Mitteldarmtumoren : 25-44% Bei Pankreas NET: unterschiedliche Ergebnisse (9-57%)	Kein	Serrano et al. 2000 Chan et al. 2003 Lubomierski et al. 2001
RB	-	-	Kein	Chung et al. 1997
p53	-	-	Kein	Bartz et al. 1996,
HER2/neu	Gastrinom	Einzelfälle	Kein	Evers et al. 1994

MEN1= multiple endokrine Neoplasie Typ1, RB= Retinoblastom

4. DISKUSSION

4.1. Neuroendokrine Tumoren des GEP-Systems: Hereditär oder sporadisch?

Das Verständnis der molekularen Grundlagen von neuroendokrinen Tumoren hat sich in den letzten Jahren erheblich erweitert. Ziel dieser Arbeit war, den derzeitigen Wissensstand der molekularen Genetik von GEP-NET, mit Hilfe eines systematischen Literatur-Reviews, zu evaluieren und die Bedeutung im medizinischen Alltag herauszustellen. Zur Beurteilung des klinischen Managements ist die Frage, ob es sich bei der Erkrankung um einen sporadischen oder hereditären neuroendokrinenTumor handelt, von zentraler Bedeutung.

Neuroendokrine Tumoren treten charakteristischerweise im Rahmen eines hereditären Tumorsyndroms auf, bei diesem sind meist mehrere endokrine und nichtendokrine Organsysteme betroffen. Eine solche familiäre Tumordisposition wird durch ein mutiertes Onkogen in der Keimzellbahn erklärt (Anonymous 1998). Klassische Beispiele für diese Tumorsyndrome und deren Genlokalisationen, zeigt folgende Tabelle:

Tabelle 5: Klassische Beispiele für Tumorsyndrome und ihre Genlokalisationen.

Krankheit	Gen	Chromosom
Von Hippel-Lindau-Syndrom	VHL	3p26
Neurofibromatose Typ1	NF1	17q11
Multiple Endokrine Neoplasie Typ1	MEN1	11q13
Multiple Endokrine Neoplasie Typ2	Ret	10q11

Bei der Diagnosestellung eines neuroendokrinen Tumors des GEP-Systems sollte daher immer eine Erkrankung in Zusammenhang mit einer familiären Disposition in Erwägung gezogen werden. Die familiäre multiple endokrine Neoplasie (MEN1) stellt dabei die einzige relevante Differentialdiagnose der erblichen Syndrome bei neuroendokrinen GEP-Tumoren dar (Marx et al. 1999; Oberg 2002). Expertengruppen geben die Wahrscheinlichkeit, bei gesichertem neuroendokrinem Tumor des GEP-Systems eine MEN1-Keimzellbahnmutation zu besitzen, mit 1 bis 40% an (Marx et al. 1999; Karges et al. 2000; Brandi et al. 2001).
MEN1-assoziierte und sporadischen GEP-Tumoren manifestieren sich mit ähnlichen Symptombilden und klinische Merkmalen (Marx et al. 1999; Pannett et al. 1999; Thakker 2000). Da die Vorsorge- und Behandlungsstrategien von hereditären und sporadischen

Tumoren jedoch stark differieren, steht im Fokus der Diagnostik ihre Unterscheidung (Karges et al. 2000; Karges et al. 2002). Die Gründe für das unterschiedliche klinische Management sind:

- Familiäre Tumorsyndrome gehen mit einem hohen Risiko für weitere Neoplasien im neuroendokrinen System einher. Dadurch wird eine langfristige Betreuung der Betroffenen erforderlich.

- Bei erblichen Erkrankungen können neben dem Patienten auch dessen Angehörige und Nachkommen von der Tumordisposition betroffen sein (Karges et al. 2000; Brandi et al. 2001; Thakker 2001; Carling 2005).

Eine definitive Bestätigung bzw. Ausschluss einer hereditären MEN1-Tumorsdisposition in der klinischen Diagnostik bereitet häufig Schwierigkeiten. Jedoch ermöglichen einige charakteristische Merkmale die Unterscheidung zwischen hereditären und sporadischen GEP-NET (Calender 2000; Thakker 2000).

Tabelle 6: **Klinische Unterscheidungsmerkmale zwischen sporadischen und hereditären neuroendokrinen Tumoren des Gastrointestinaltrakts** (Trump et al. 1996; Pannett et al. 1999; Karges et al. 2000; Schussheim et al. 2001).

	Hereditär	Sporadisch
Tumorlokalisation	• Multifokal • Syn- und metachron	• unifokal
Manifestationsalter der Tumoren	• Mit 20J.: 50% • Mit 40 J.: über 90%	• 10-30 J. später als hereditäre
Familienanamnese	• Meist positiv	• Meist negativ

Von entscheidender Bedeutung bei der Diagnostik ist, wie bereits in Tabelle 6 erwähnt, eine präzise und systematische Familienanamnese. Sie beinhaltet unter anderem eine spezifische Symptomabfrage der Familienmitglieder nach neuroendokrinen Erkrankungen, welche erste Hinweise auf mögliche Mutationsträger geben können. Fällt die Familienanamnese leer aus, kann jedoch ein MEN1-Syndrom nicht ausgeschlossen werden, da z.B. durch Tod, Scheidung oder Kontaktverlust die Anamnese nicht bei jedem der Mitglieder möglich ist. Es ist ebenfalls zu beachten, dass der Mendel Regel zur Folge ca. die Hälfte der Familienmitglieder keine Genmutation besitzen und dadurch auch keine krankheitsspezifischen Symptome zeigen (Thakker 2001). Eine leere Familienanamnese ist auch bei Betroffenen zu erwarten, bei denen eine Neumutation ursächlich für die Entstehung des hereditären MEN1-Syndroms ist (Bassett et al. 1998). Nach ausführlicher Anamnese und körperlicher Untersuchung kann bei folgenden Patienten mit hoher Wahrscheinlichkeit die klinische Diagnose eines MEN1-Syndroms gestellt werden:

- Patienten mit Verwandten ersten Grades, welche zwei oder mehr MEN1-Neoplasien mit einer typischen Organmanifestation aufzeigen (Karges et al. 2000; Thakker 2001).

- Patienten, welche an zwei der drei MEN1-Hauptmanifestationsorgane (Primärer Hyperparathyroidismus, Hypophysenadenom und neuroendokriner Tumor des GEP-Systems) erkrankt sind, unabhängig von ihrer Familienanamnese (Karges et al. 2000; Brandi et al. 2001; Thakker 2001).

4.2. Kandidatengene für neuroendokrine GEP-Tumoren und ihre Bedeutung in der Gendiagnostik

In dieser Arbeit wurde ein Spektrum von relevanten Onkogenen analysiert, welche eine Rolle in der Entstehung von neuroendokrinen Tumoren von Pankreas, Magen und Duodenum spielen können. Für die klinische Medizin von Bedeutung ist bislang die Keimzellbahnmutation des MEN1-Gens, für welches eine kausale Rolle in der Onkogenese der NET gesichert ist.

Bei Auftreten eines neuroendokrinen Tumors im GEP-System sollte daher immer einehereditäre Erkrankung im Rahmen eines MEN1-Syndroms in Erwägung gezogen werden. Andere Kandidatengene, wie beispielsweise das Smad4 Gen oder die CDKN2-Genfamilie, lassen zwar an Hand verschiedener Studienresultate eine Bedeutung in der Entstehung von NET des GEP-Systems vermuten, außerhalb von wissenschaftlichen Fragestellungen besitzen diese Kandidatengene jedoch keine klinische Relevanz in der Gendiagnostik (Hahn et al. 1996; Lubomierski et al. 2001). Dies liegt vor allem darin begründet, dass bis zum jetzigen Zeitpunkt keine ausreichenden wissenschaftlichen Ergebnisse vorliegen, die einen klaren und deutlichen Zusammenhang zwischen einer Kandidatengenmutation und einer Tumorentstehung erkennen lassen. Des Weiteren bewirken diese identifizierten Kandidatengene nicht nur eine Tumorentstehung im neuroendokrinen GEP-System oder im Rahmen eines bekannten Tumorsyndroms, sondern sind auch an der Onkogenese vieler verschiedener Tumoren beteiligt (He et al. 1998; Bartsch et al. 1999; Lubomierski et al. 2001).

Bei einem positiven Mutationsergebnis, sollte die prädikative genetische Diagnostik eine klinische Konsequenz, wie beispielsweise die Einbindung in Früherkennungsuntersuchungen oder therapeutische Maßnahmen, zur Folge haben. Bei den Kandidatengenen, mit Ausnahme des MEN1-Gens, kann jedoch dieser Anspruch an die Gendiagnostik nicht erfüllt werden (Anonymous 1998). Nachstehende Abbildung veranschaulicht die Genlokalisationen von Kandidatengenen in der Onkogenese von neuroendokrinen GEP-Tumoren.

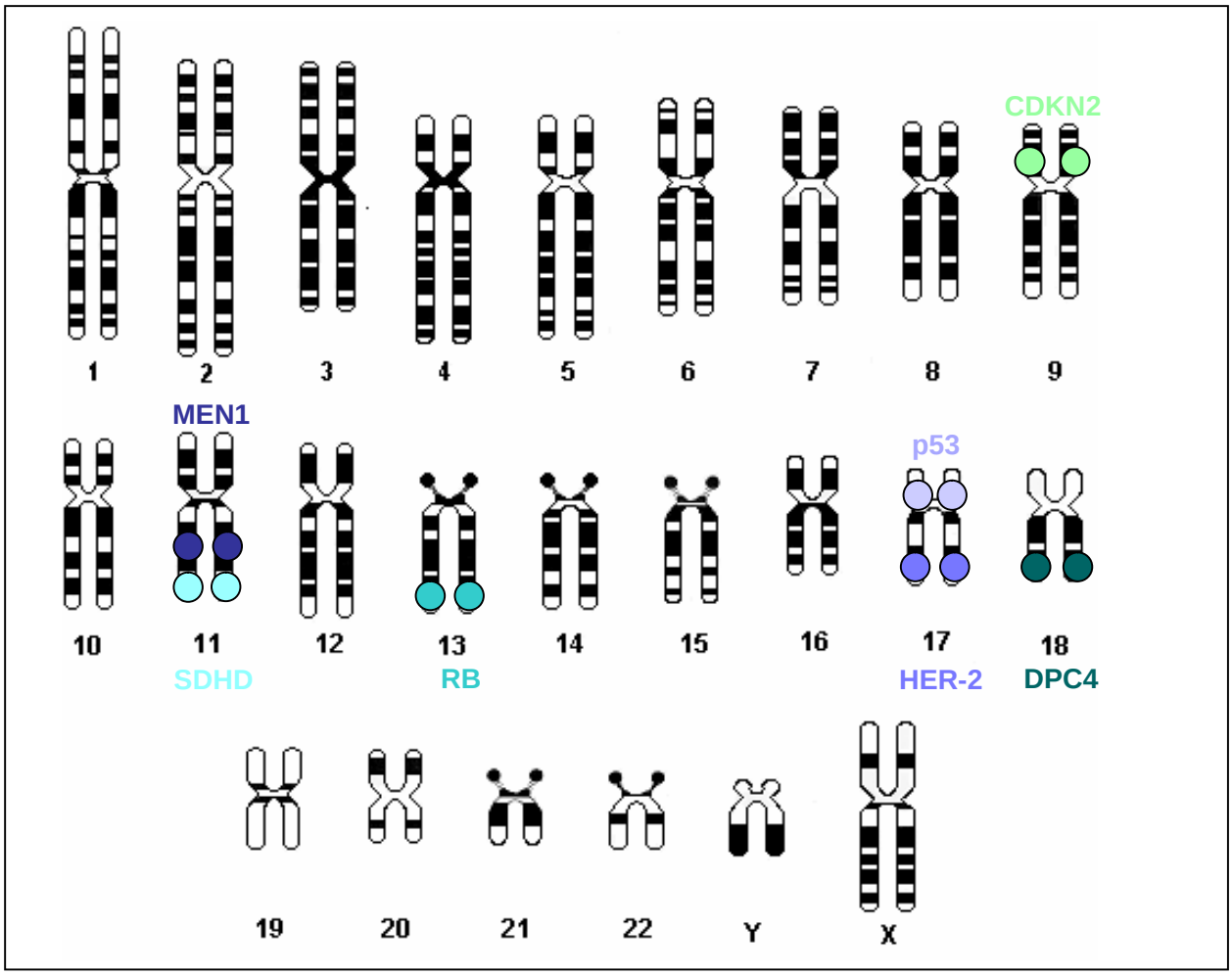


Abbildung 14: Kandidatengene und ihre Genloci in der Onkogenese von neuroendokrinen Tumoren des Gastrointestinaltrakts. Schematische Darstellung eines männlichen Chromosomensatzes mit der Genlokalisation der Kandidatengene.

4.3. Ziele der Gendiagnostik

Das MEN1-Gen, ist auf Grund überzeugender Forschungsergebnissen, das einzig klinisch relevante Kandidatengen für neuroendokrine GEP-Tumoren, bei welchem eine gezielte Gendiagnostik angewandt wird. Eine frühe klinische Unterscheidung zwischen einem hereditären MEN1-Syndrom und einem sporadischen neuroendokrinen Tumor erweist sich trotz MEN1- charakteristischen Merkmalen als schwierig. Durch die Verfügbarkeit der Genanalyse kann jedoch mit hoher Wahrscheinlichkeit geklärt werden, ob eine hereditäre oder sporadische Tumorerkrankung vorliegt (Brandi et al. 2001; Thakker 2001; Balogh et al. 2004). Diese Erkenntnis eröffnet der Krebsfrüherkennung und der prädikativen Gendiagnostik neue Möglichkeiten. Die Genanalyse richtet sich an Patienten und deren Angehörige mit gesichertem neuroendokrinem GEP-Tumor. Die Identifikation einer MEN1-Keimbahnmutation kann zu einem Zeitpunkt geschehen, bei dem keine Unterscheidung auf

Grund klinischer Manifestation und biologischer Untersuchung zwischen einem hereditärem und einem sporadischem Tumor möglich wäre (Brandi et al. 2001; Karges et al. 2002; Balogh et al. 2004). Ziel der Genanalyse ist vor allem die Planung weiterer Behandlungsstrategien, um Krankheitszeichen eines beginnenden MEN1-Syndroms rechtzeitig zu erkennen (Plockinger et al. 2002). Folgende Tabelle gibt einen Überblick zum unterschiedlichen klinischen Management von hereditären und sporadischen GEP-NET.

Tabelle 7: Unterschiedliches klinisches Management von gesicherten sporadischen und hereditären neuroendokrinen Tumoren des Gastrointestinaltrakts (Karges et al. 2000; Plockinger et al. 2002).

	Hereditär	Sporadisch
Diagnostik	• Suche nach weiteren endokrinen und nicht-endokrinen Organ-manifestationen, welche im Rahmen eines MEN1-Syndroms auftreten können. • Lebenslängliche regelmäßige klinische Diagnostik (Labor etc.) zur Früherkennung von weiteren Neoplasien. • Genetisches Screening der Angehörigen auf eine MEN1-Mutation.	• Keine weitere Diagnostik auf neuroendokrine Zweitneoplasien. • Kein genetisches Screening der Angehörigen.
Therapie	• Es steht keine **prophylaktische,** chirurgische oder medi-kamentöse Therapie zur Verfügung.	

MEN1= multiple endokrine Neoplasie Typ1

Ein weiteres wichtiges Ziel der Genanalyse ist die prädikative genetische Diagnostik gesunder Familienangehöriger von Patienten mit identifizierter Keimbahnmutation. Für erstgradig Verwandte besteht ein Risiko von 50% ebenfalls Mutationsträger zu sein. Das MEN1-Syndrom zeigt bei Mutationsträgern eine hohe klinische Penetranz: das Erkrankungsrisiko liegt bis zum 45. Lebensjahr bei ca. 80-95% (Trump et al. 1996; Thakker 1998; Marx et al. 1999). Die Genanalyse kann aber keine Aussagen zu klinischem Verlauf, Schweregrad und Erstmanifestation der einzelnen Mutationsträger einer Familie machen, da bis dato keine Genotyp-Phänotyp-Korrelation beobachtet werden konnte (Agarwal et al. 1997; Goebel et al. 2000; Kouvaraki et al. 2002; Wautot et al. 2002). Betroffene

asymptomatische Familienangehörige mit nachgewiesener MEN1-Keimbahnmutation werden in ein Programm zur Früherkennung und Vorsorge von NET aufgenommen. Jährliche Untersuchungen und Behandlungen können die MEN1 bedingte Morbidität und Mortalität reduzieren und bei der rechtzeitigen Erkennung von Organmanifestationen helfen. Somit wird ein zeitnahes und präzises Handeln ermöglicht. Aus diesen Gründen empfehlen Wissenschaftler auch Kindern mit identifizierter MEN1-Keimbahnmutation eine Teilnahme am Früherkennungsprogramm (Karges et al. 2000; Karges et al. 2003; Schussheim et al. 2001).

Neuroendokrine Tumoren zeigen schon Jahre vor ihrer klinischen Manifestation pathologische Laborwerte und auffällige Untersuchungsergebnisse bei der apparativen Diagnostik. Dadurch können therapeutische Interventionen in einem frühen Tumorstadium erfolgen (Plockinger et al. 2002). Ein standardisiertes klinisches Screening Programm für asymptomatische Mutationsträgern wurde von der Deutschen MEN1-Studiengruppe vorgestellt (Karges et al. 2000).

Tabelle 8: Follow-up für asymptomatische MEN1-Mutationsträger (nach Karges et al. 2000).

Jährlich
• ausführliche Anamnese • sorgfältige körperliche Untersuchung • Laborwertbestimmungen von Serumkalzium, Parathormon, Prolaktin und Gastrin • Oberbauchsonographie
alle 3-5 Jahre
• MRT der Hypophyse • Bildgebende Diagnostik des Pankreas (MRT, Ultraschall, ERCP)

MRT= Magnetresonanz Tomographie, ERCP= Endoskopische retrograde Cholangio-pankreatikographie, MEN1= multiple endokrine Neoplasie Typ1

Eine unmittelbare therapeutische Konsequenz schließt sich bei Mutationsträgern jedoch der Genanalyse nicht an, da eine ablative operative Therapie potentiell betroffener Organe, im Gegensatz zum MEN2-Syndrom, nicht sinnvoll erscheint (Brandi et al. 2001; Karges et al. 2003). Der Schwerpunkt der klinischen Versorgung der Mutationsträger liegt in der kontinuierlichen Beobachtung. Zum Langzeiterfolg der Früherkennungsprogramme liegen derzeit jedoch noch keine kontrollierten klinischen Studien vor.

Ein weiteres Ziel der Gendiagnostik besteht darin, das Phänomen der Phänokopie bei Familienangehörigen eines erkrankten Patienten zu objektivieren und zu verifizieren. Studien über Patienten, welche an einem neuroendokrinen Tumor leiden, zeigen, dass bei bis zu 10% der Familienmitgliedern ähnliche Erkrankungen auftraten, folglich wurde bei diesen Patienten eine familiären Tumordisposition vermutet. Diese Vermutung konnte in den genetischen Untersuchungen nicht bestätigt werden, da es sich wieder erwartend um sporadische neuroendokrine Tumoren handelte. Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung ist die Phänokopie (Marx et al. 1999; Burgess et al. 2000; Hai et al. 2000).

Mit Hilfe der Genanalyse wird bei ca. der Hälfte der Familienangehörigen keine MEN1-Mutation identifiziert. Für diese besteht ein Risiko von weniger als 0,1%, ein MEN1-Syndrom zu entwickeln, welches dem Durchschnittsrisiko der Normalbevölkerung entspricht (Marx et al. 1998). Entscheidend ist außerdem, dass auch an ihre Kinder kein erhöhtes Risiko für ein MEN1-Syndrom weitergegeben wird.

Familienmitglieder ohne MEN1-Mutationsnachweis bedürfen nach derzeitigem Wissen keiner weiteren klinischen Screening Untersuchung auf einen neuroendokrinen Tumor. Der Ausschluss einer MEN1-Genmutation kann für den Angehörigen eine große Entlastung darstellen und zu einer erheblichen Verbesserung seiner Lebensqualität führen.

4.4. Prinzipien in der klinischen MEN1-Gendiagnostik

Die Durchführung der Genanalyse erfolgt bei erkrankten Patienten mit verdächtigem MEN1–Tumor, wie auch im Rahmen eines familiären Mutationsnachweises, nach denselben klinischen und ethischen Prinzipien. Gemäß den Richtlinien der Bundes-ärztekammer wird der Patient vor der Gendiagnostik in ein medizinisch-genetisches Beratungskonzept eingebunden. Gegenstand dieses Konzeptes ist das Aufklären über die genetische Erkrankung sowie die sich hieraus ergebenden Möglichkeiten und Grenzen von Früherkennungsmaßnahmen und Therapieoptionen. Des Weiteren werden die Patienten und deren Angehörige darüber informiert, dass bislang beim MEN1-Syndrom keine Genotyp-Phänotyp Korrelation festgestellt werden konnte. Diese Feststellung hat zur Konsequenz, dass die einzelnen Familienmitglieder, trotz identischer Genlokalisation, unterschiedliche Manifestationsformen der Erkrankung zeigen (Goebel et al. 2000; Thakker 2001; Kouvaraki et al. 2002). Nach der genetischen Beratung und vor der praktischen Durchführung sollte eine schriftliche Einwilligung des Patienten zur Mutationsanalyse erfolgen. Auf die Möglichkeit der Verweigerung des Tests wird selbstverständlich aufmerksam gemacht (Anonymous 1998). Das Wissen, eine mit einer Krebsdisposition verbundene Keimbahnmutation zu besitzen, kann eine große seelische Belastung für den Betroffenen darstellen. Aus diesem Grund sollte auch das Recht auf „nicht wissen“ bei dem Patienten respektiert werden.

Das Mitteilen des Testergebnisses sollte in Form eines Beratungsgesprächs mit dem Patienten erfolgen. Im Falle eines positiven Mutationsnachweises wird hier die Möglichkeit gezielter Vorsorgeuntersuchungen und Früherkennungsprogramme besprochen. Daneben weist der Arzt insbesondere auf die Notwendigkeit eines familiären Screenings bei erstgradig Verwandten hin. Außerdem sollte man den Ratsuchenden auf eine mögliche psycho-therapeutische Begleitung aufmerksam machen bzw. eine solche gegebenenfalls veranlassen (Anonymous 1998).

Indikationen zur MEN1-Genmutationsanalyse

Die Kosten einer MEN1-Genmutationsanalyse, sind auf Grund des großen analytischen Aufwands und der geringen Inzidenz der Erkrankung relativ hoch. Daher sollte die Indikation zur MEN1-Genmutationsanalyse bei Patienten mit neuroendokrinem Tumor im GEP-System nur bei gegebenem klinischem Verdacht auf ein MEN1-Syndrom gestellt werden. Eine weitere wichtige Indikationsstellung erfolgt bei Angehörigen von symptomatischen und asymptomatischen Mutationsträgern. Forschungsgruppen erarbeiteten die Indikationsstellungen zur MEN1-Genmutationsanalyse. In Tabelle 9 werden diese Ergebnisse zusammengefasst:

Tabelle 9: **Indikationen zur MEN1-Genmutationsanalyse** (Modifiziert nach Brandi et al. 2001 und Karges et al. 2000)

Indikationen für Patienten mit einem gesichertem MEN1-charakteristischen NET:
• Primärer Hyperparathyroidismus • Tumor im GEP-System • Hypophysentumor • Thymus, Bronchus oder Nebenniere
plus ein Zusatzkriterium:
• Alter< 40 Jahre • Multifokaler Tumor • Typische Zweitneoplasie (Hypophyse, Nebenschilddrüse, Thymus, Bronchus oder Nebenniere
Indikationen für Angehörige
• Erstgradig Verwandte von symptomatischen MEN1-Patienten • Erstgradig Verwandte von asymptomatischen MEN1-Genträgern

MEN1= multiple endokrine Neoplasie Typ 1, GEP= gastroenteropankreatisch

Mit Hilfe dieser Indikationsstellung kann bei neuroendokrinen Tumoren des GEP-Systems die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer MEN1-Mutation um das 30-40 fache gesteigert werden (Baudin et al. 1999). Neuroendokrine Tumoren des Mittel- und Enddarms sind sehr selten durch eine MEN1-Mutation verursacht. Bei diesen Neoplasien ist keine Indikationsstellung zur MEN1-Genanalyse gegeben (Karges et al. 2003).

Zeitpunkt der Genanalyse

Das Manifestationsalter eines MEN1-Tumors ist früher als bei sporadischen neuroendokrinen Tumoren im GEP-System. MEN1-Tumoren treten aber sehr selten vor der Pubertät auf: Bei mehr als 95% der MEN1- assoziierten Tumoren wird die Diagnose erst nach dem 12. Lebensjahr gestellt (Thakker et al. 1989; Komminoth et al. 1998). Ein einzelnes Vorkommen eines Makroadenoms der Hypophyse wurde in der Literatur bei einem 5 jährigen Kind beschrieben (O'Brien et al. 1996).

Es ist sinnvoll die genetische Untersuchung vor Eintritt der Pubertät durchzuführen, da Jugendliche in dieser Zeit mit Problemen des Selbstfindungs- und Abnabelungsprozesses beschäftigt sind. Ein positiver Mutationstest würde in dieser Situation eine Krankheitsakzeptanz erschweren. Der Zeitpunkt der Genanalyse wird daher zwischen dem 10.-12. Lebensjahr empfohlen (Karges et al. 2000; Thakker 2001). In dieser Lebensphase sind die Kinder alt genug, um mit ihren Eltern über die Krankheit zu reden und sich an der Diskussion zu beteiligen.

Sensitivität der MEN1-Genanalyse

Die Sensitivität der MEN1-Gendiagnostik bei Patienten mit klassischem MEN1-Syndrom wird in der Literatur mit ca. 80-95% (Bassett et al. 1998; Perrier et al. 2002) angegeben. Mit der Konsequenz, dass bei 5-20% der Patienten mit klinisch gesichertem MEN1-Syndrom keine Keimbahnmutation in der Genanalyse festgestellt (Agarwal et al. 1997; Bassett et al. 1998; Teh et al. 1998; Mutch et al. 1999). Gründe dafür stellen zum einen das oben aufgeführte schwierige Diagnostikverfahren dar. Zum anderen kann es sich natürlich trotz klinisch diagnostiziertem MEN1-Syndrom um einen sporadischen Tumor handeln. Obwohl es sich bei der Gendiagnostik um ein teures Verfahren handelt, ist in diesem Fall eine Wiederholung der Mutationsanalyse indiziert, da die medizinischen Folgen für den Patienten und seine Angehörigen bei einem positivem Mutationsträgerstatus weitreichend wären. Gelingt auch bei zweiter Genanalyse kein Mutationsnachweis, sollten die erstgradig Verwandten des Patienten getestet werden, um über diesen Weg eine Information zu erhalten, ob der Patient an einer erblichen Erkrankung leidet (Karges et al. 2000).

Praktische Durchführung der Gendiagnostik

Der Vorteil einer DNA Analyse besteht darin, dass bereits eine geringe Blutmenge (5-10 ml) genügt, um die Diagnose zu stellen. Diese muss theoretisch nie wiederholt werden, da ein objektives qualitatives Ergebnis resultiert (Mutationsträger ja/nein). Die Blutprobe bleibt heperanisiert oder als EDTA-Blut bei Raumtemperatur mindestens 2-3 Tage stabil. Anschließend erfolgt in einem für Gendiagnostik spezialisiertem Institut der Mutationsnachweis durch DNA- Sequenzierung nach PCR Amplifikation (Karges et al. 2000; Shapiro et al. 2003; Lairmore et al. 2004).

Das Diagnostikverfahren des MEN1-Gens gestaltet sich als sehr aufwendig und teuer. Da bisher über 600 verschiedene MEN1-Keimbahnmutationen weltweit beschrieben wurden (Agarwal et al. 1997; Bassett et al. 1998; Pannett et al. 1999; Turner et al. 2002) sind die hohen Kosten u.a. dadurch bedingt, dass bei einer Mutationsanalyse die gesamte kodierende MEN1-Gensequenz beurteilt werden muss, um eine Lokalisation der Mutation feststellen zu können (Schussheim et al. 2001; Balogh et al. 2004).

Im Gegensatz zu anderen monogenetischen Erkrankungen wie z.B. bei dem MEN2-Syndrom oder der Cystischen Fibrose, zeigt die MEN1-Gensequenz keine regionale Häufung von Mutationsereignissen, so genannte “hot spots“) (Schussheim et al. 2001).
Die jeweilige Prävalenz der entdeckten Lokalisationen der MEN1-Mutation ist sehr niedrig. Schließlich tritt keine öfter als 2% bei MEN1-Patienten auf (Karges et al. 2002). Bei der Analyse kommt noch erschwerend dazu, dass keine der beobachteten Mutationslokalisationen eine Genotyp-Phänotyp Korrelation aufweist (Gobl et al. 1999; Thakker 2001; Kouvaraki et al. 2002). Die Durchführung einer Genanalyse im Rahmen einer Familienuntersuchung gestaltet sich dagegen technisch sehr viel einfacher und kostengünstiger. Ursache hierfür ist, dass die Gendiagnostik gezielt die vorhandenen familientypische Genlokalisation untersuchen kann (Balogh et al. 2004).

Folgendes Flussdiagramm fasst das diagnostische Management und die möglichen resultierenden Vorsorgestrategien bei Patienten mit neuroendokrinem Tumor im GEP-System zusammen:

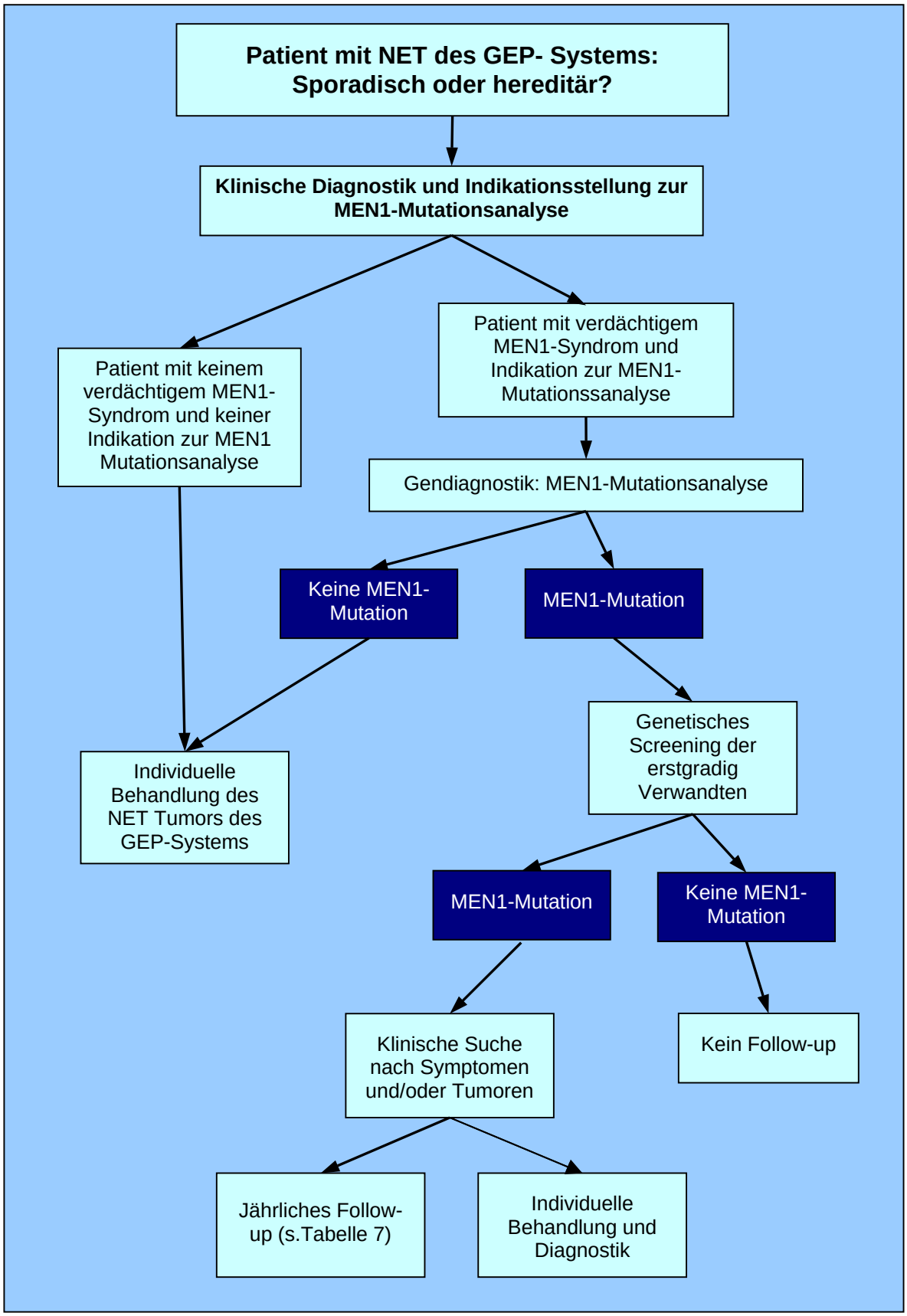


Abbildung 15: Flussdiagramm zum diagnostischen Management und Follow-up bei Patienten mit GEP-NET (nach Karges et al. 2000 und Thakker et al. 2001). MEN1= multiple endokrine Neoplasie Typ1, GEP= gastroenteropankreatisch, NET= neuroendokriner Tumor

4.5. Ethische Perspektiven in der Gendiagnostik

Im Gesundheitswesen finden genetische Tests schon seit langer Zeit Anwendung. In den letzten Jahren wurde die Debatte um die ethische Problematik der gendiagnostischen Testverfahren intensiv geführt.

Als Hauptgrund ist in diesem Zusammenhang die Diskussion über die Anwendung von Gentests in Beschäftigungsverhältnissen zu nennen. Die Einführung dieser Tests birgt Chancen, welche sowohl im Interesse der Arbeitnehmer als auch der Arbeitgeber sind. Gleichzeitig können diese berechtigterweise zu ethischen und moralischen Bedenken führen, da genetische Tests eine Stigmatisierung und Diskriminierung von (potentiellen) Arbeitnehmern darstellen können.

Auch die Anwendung der Gendiagnostik im Versicherungswesen erfordert eine sorgfältige Abwägung sowohl der Interessen des Versicherten als auch der Krankenversicherungen. Im Bereich der gesetzlichen Krankenversicherung spielen genetische Tests praktisch noch keine Rolle, da die Beitragzahlung auf den Prinzipien der Solidaritätsgemeinschaft beruht. Wie lange das Solidaritätsprinzip in der gesetzlichen Krankenkasse jedoch noch aufrechterhalten werden kann, ist in Zeiten leerer Staatskassen und weit reichender struktureller Änderungen im Gesundheitswesen fraglich.

In der privaten Krankenversicherung können dagegen im Rahmen der individuellen Risikoprüfung auch genetische Tests verlangt werden. Dies kann in der Konsequenz dazu führen, dass Versicherungsinteressenten mit einem erhöhten genetischen Risiko höhere Versicherungsprämien zahlen müssen bzw. nicht in der privaten Versicherung aufgenommen werden.

Die neuesten Forschungen in der DNA-Analyse zeigen, dass in Zukunft immer mehr neoplastische Erkrankungen, als Folge von genetischen Polymorphismen und Mutationen, identifiziert werden können. Angesichts dieser rasanten Entwicklungen in der Wissenschaft der Gendiagnostik könnten sich die möglichen Gefahren und Probleme erweitern. Denn je mehr genetische Informationen verfügbar sind, desto umfassender muss auch das Beratungsangebot für den Betroffenen organisiert sein.

Die Debatte um die genetischen Tests wird in der Öffentlichkeit keinen Abbruch erfahren, da diese für das Individuum eine zunehmende Relevanz im Alltagsleben darstellen. In vielen Bereichen finden die genetischen Tests jedoch auf schwankendem rechtlichem Boden statt. Es ist daher dringend nötig, dass für die Gendiagnostik ein legislativer Rahmen geschaffen wird.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Bei neuroendokrinen Tumoren des Gastrointestinaltrakts (GEP-NET) handelt es sich um eine heterogene Gruppe von malignen und benignen Neoplasien, welche sporadisch oder hereditär auftreten. Das molekulare Verständnis neuroendokriner Tumoren konnte dank des wissenschaftlichen und technischen Forschritts in der Gentechnik wesentlich erweitert werden. Im Fokus der Untersuchungen steht die Charakterisierung und Identifizierung relevanter Onkogene.

Ziel der Arbeit war mit Hilfe einer systematischen Literaturrecherche Kandidatengene für die Onkogenese von NET des Gastrointestinaltrakts und deren klinischen Bedeutung zu evaluieren. In der Datenbank NCBI/Pubmed (National Center of Biotechnology Information) wurden zu diesem Thema 1097 Literaturstellen gesichtet.

Die Analyse der Studienergebnisse zeigt, dass in der heterogenen Gruppe der GEP-NET eine Vielzahl chromosomaler Verluste oder Gewinne innerhalb des Tumorgenoms beobachtet wurden. Tumoren gleichen Ursprungs wie Vorderdarm- oder Mitteldarmgewebe zeigen häufig ähnliche Chromosomenabberrationen.

Ein großes Spektrum von Kandidatengenen konnte durch genomweite Strategien identifiziert werden. Studienergebnissen zur Folge wird dem Tumorsuppressorgen DPC4 (deleted in pancreatic carcinomas locus 4) möglicherweise eine Bedeutung in der Onkogenese maligner Pankreaskarzinome (bis zu 55% der Fälle) zugeschrieben. Mitglieder der CDKN2 (cyclin dependent kinase inhibitor, type 2)-Genfamilie konnten bei bis zu 52% der sporadischen Gastrinomen eine Mutation aufweisen. Außerhalb von wissenschaftlichen Fragestellungen besitzen diese Kandidatengene jedoch zum jetzigen Zeitpunkt keine klinische Relevanz. In der Entstehung von hereditären als auch sporadischen GEP-NET kommt vor allem der MEN1 (multiple endokrine Neoplasie Typ1)-Genmutation eine zentrale Bedeutung zu: Bei sporadischen NET konnte in einer Vielzahl von Untersuchungen in bis zu 33% der Fälle eine MEN1-Genmutation identifiziert werden. Die aktuelle Datenlage belegt, dass nahezu alle (>90%) hereditären GEP-NET mit einer MEN1-Genmutation assoziiert sind. Für die praktische Medizin von hoher Relevanz ist daher die Erkennung hereditärer Tumoren im Rahmen eines MEN1-Syndroms. Die Unterscheidung zwischen sporadischen und hereditären neuroendokrinen GEP-Tumoren ist insofern wichtig, da sich hieraus ein unterschiedliches klinisches Management für die Betroffenen ableitet. Durch die Verfügbarkeit der Gendiagnostik kann ein eindeutiger Nachweis eines hereditären Tumorsyndroms bei Betroffenen mit neuroendokrinem GEP-Tumor und gegebener klinischen Indikation erfolgen.

Zusammenfassend stellen neuroendokrine Tumoren des GEP-Systems beispielhaft die erfolgreiche Vernetzung von molekulargenetischer Grundlagenforschung und klinischer Anwendung dar.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Agarwal SK, Guru SC, Heppner C, Erdos MR, Collins RM, Park SY, Saggar S, Chandrasekharappa SC, Collins FS, Spiegel AM, Marx SJ, Burns AL: Menin interacts with the AP1 transcription factor JunD and represses JunD-activated transcription. Cell 96: 143-152 (1999)

2. Agarwal SK, Kester MB, Debelenko LV, Heppner C, Emmert-Buck MR, Skarulis MC, Doppman JL, Kim YS, Lubensky IA, Zhuang Z, Green JS, Guru SC, Manickam P, Olufemi SE, Liotta LA, Chandrasekharappa SC, Collins FS, Spiegel AM, Burns AL, Marx SJ: Germline mutations of the MEN1 gene in familial multiple endocrine neoplasia type 1 and related states. Hum Mol Genet 6: 1169-1175 (1997)

3. Agarwal SK, Lee Burns A, Sukhodolets KE, Kennedy PA, Obungu VH, Hickman AB, Mullendore ME, Whitten I, Skarulis MC, Simonds WF, Mateo C, Crabtree JS, Scacheri PC, Ji Y, Novotny EA, Garrett-Beal L, Ward JM, Libutti SK, Richard Alexander H, Cerrato A, Parisi MJ, Santa Anna AS, Oliver B, Chandrasekharappa SC, Collins FS, Spiegel AM, Marx SJ: Molecular pathology of the MEN1 gene. Ann N Y Acad Sci 1014: 189-198 (2004)

4. Alroy I, Yarden Y: The ErbB signaling network in embryogenesis and oncogenesis: signal diversification through combinatorial ligand-receptor interactions. FEBS Lett 410: 83-86 (1997)

5. Anonymous: Richtlinien zur Diagnostik der genetischen Disposition für Krebserkrankungen. Dtsch Arztebl 95: 1121-1127 (1998)

6. Asgharian B, Chen YJ, Patronas NJ, Peghini PL, Reynolds JC, Vortmeyer A, Zhuang Z, Venzon DJ, Gibril F, Jensen RT: Meningiomas may be a component tumor of multiple endocrine neoplasia type 1. Clin Cancer Res 10: 869-880 (2004)

7. Asgharian B, Turner ML, Gibril F, Entsuah LK, Serrano J, Jensen RT: Cutaneous tumors in patients with multiple endocrine neoplasm type 1 (MEN1) and gastrinomas: prospective study of frequency and development of criteria with high sensitivity and specificity for MEN1. J Clin Endocrinol Metab 89: 5328-5336 (2004)

8. AWMF online: Erarbeitung von Leitlinien für Diagnostik und Therapie-Methodische Empfehlungen ("Leitlinie für Leitlinie"). AWMF-Arbeitsgemeinshaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften online, www.uni-duesseldorf.de (2000)

9. Bachmann KD: Der wissenschaftliche Beirat der Bundesärztekammer. Funktion und Arbeit sowie Bilanz. Dtsch Ärztebl 94: 582-588 (1997)

10. Badenhop RF, Cherian S, Lord RS, Baysal BE, Taschner PE, Schofield PR: Novel mutations in the SDHD gene in pedigrees with familial carotid body paraganglioma and sensorineural hearing loss. Genes Chromosomes Cancer 31: 255-263 (2001)

11. Balogh K, Patocs A, Majnik J, Racz K, Hunyady L: Genetic screening methods for the detection of mutations responsible for multiple endocrine neoplasia type 1. Mol Genet Metab 83: 74-81 (2004)

12. Barghorn A, Komminoth P, Bachmann D, Rutimann K, Saremaslani P, Muletta-Feurer S, Perren A, Roth J, Heitz PU, Speel EJ: Deletion at 3p25.3-p23 is frequently encountered in endocrine pancreatic tumours and is associated with metastatic progression. J Pathol 194: 451-458 (2001)

13. Bartsch D, Hahn SA, Danichevski KD, Ramaswamy A, Bastian D, Galehdari H, Barth P, Schmiegel W, Simon B, Rothmund M: Mutations of the DPC4/Smad4 gene in neuroendocrine pancreatic tumors. Oncogene 18: 2367-2371 (1999)

14. Bartz C, Ziske C, Wiedenmann B, Moelling K: p53 tumour suppressor gene expression in pancreatic neuroendocrine tumour cells. Gut 38: 403-409 (1996)

15. Bassett JH, Forbes SA, Pannett AA, Lloyd SE, Christie PT, Wooding C, Harding B, Besser GM, Edwards CR, Monson JP, Sampson J, Wass JA, Wheeler MH, Thakker RV: Characterization of mutations in patients with multiple endocrine neoplasia type 1. Am J Hum Genet 62: 232-244 (1998)

16. Baudin E, Bidart JM, Rougier P, Lazar V, Ruffie P, Ropers J, Ducreux M, Troalen F, Sabourin JC, Comoy E, Lasser P, DeBaere T, Schlumberger M: Screening for multiple endocrine neoplasia type 1 and hormonal production in apparently sporadic neuroendocrine tumors. J Clin Endocrinol Metab 84: 69-75 (1999)

17. Baysal BE, Ferrell RE, Willett-Brozick JE, Lawrence EC, Myssiorek D, Bosch A, van der Mey A, Taschner PE, Rubinstein WS, Myers EN, Richard CW, 3rd, Cornelisse CJ, Devilee P, Devlin B: Mutations in SDHD, a mitochondrial complex II gene, in hereditary paraganglioma. Science 287: 848-851 (2000)

18. Benchimol S, Lamb P, Crawford LV, Sheer D, Shows TB, Bruns GA, Peacock J: Transformation associated p53 protein is encoded by a gene on human chromosome 17. Somat Cell Mol Genet 11: 505-510 (1985)

19. Berger MS, Locher GW, Saurer S, Gullick WJ, Waterfield MD, Groner B, Hynes NE: Correlation of c-erbB-2 gene amplification and protein expression in human breast carcinoma with nodal status and nuclear grading. Cancer Res 48: 1238-1243 (1988)

20. Bertolino P, Radovanovic I, Casse H, Aguzzi A, Wang ZQ, Zhang CX: Genetic ablation of the tumor suppressor menin causes lethality at mid-gestation with defects in multiple organs. Mech Dev 120: 549-560 (2003)

21. Bieche I, Lidereau R: Loss of heterozygosity at 13q14 correlates with RB1 gene underexpression in human breast cancer. Mol Carcinog 29: 151-158 (2000)

22. Bodmer WF: Cancer genetics. Br Med Bull 50: 517-526 (1994)

23. Brandi ML, Gagel RF, Angeli A, Bilezikian JP, Beck-Peccoz P, Bordi C, Conte-Devolx B, Falchetti A, Gheri RG, Libroia A, Lips CJ, Lombardi G, Mannelli M, Pacini F, Ponder BA, Raue F, Skogseid B, Tamburrano G, Thakker RV, Thompson NW, Tomassetti P, Tonelli F, Wells SA, Jr., Marx SJ: Guidelines for diagnosis and therapy of MEN type 1 and type 2. J Clin Endocrinol Metab 86: 5658-5671 (2001)

24. Burgess JR, Nord B, David R, Greenaway TM, Parameswaran V, Larsson C, Shepherd JJ, Teh BT: Phenotype and phenocopy: the relationship between genotype and clinical phenotype in a single large family with multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN 1). Clin Endocrinol 53: 205-211 (2000)

25. Bystrom C, Larsson C, Blomberg C, Sandelin K, Falkmer U, Skogseid B, Oberg K, Werner S, Nordenskjold M: Localization of the MEN1 gene to a small region within chromosome 11q13 by deletion mapping in tumors. Proc Natl Acad Sci U S A 87: 1968-1972 (1990)

26. Calender A: Molecular genetics of neuroendocrine tumors. Digestion 62: 3-18 (2000)

27. Carling T: Multiple endocrine neoplasia syndrome: genetic basis for clinical management. Curr Opin Oncol 17: 7-12 (2005)

28. Chan AO, Kim SG, Bedeir A, Issa JP, Hamilton SR, Rashid A: CpG island methylation in carcinoid and pancreatic endocrine tumors. Oncogene 22: 924-934 (2003)

29. Chandrasekharappa SC, Guru SC, Manickam P, Olufemi SE, Collins FS, Emmert-Buck MR, Debelenko LV, Zhuang Z, Lubensky IA, Liotta LA, Crabtree JS, Wang Y, Roe BA, Weisemann J, Boguski MS, Agarwal SK, Kester MB, Kim YS, Heppner C, Dong Q, Spiegel AM, Burns AL, Marx SJ: Positional cloning of the gene for multiple endocrine neoplasia-type 1. Science 276: 404-407 (1997)

30. Chanson P, Cadiot G, Murat A: Management of patients and subjects at risk for multiple endocrine neoplasia type 1: MEN 1. GENEM 1. Groupe d'Etude des Neoplasies Endocriniennes Multiples de type 1. Horm Res 47: 211-220 (1997)

31. Chiao PJ, Hunt KK, Grau AM, Abramian A, Fleming J, Zhang W, Breslin T, Abbruzzese JL, Evans DB: Tumor suppressor gene Smad4/DPC4, its downstream target genes, and regulation of cell cycle. Ann N Y Acad Sci 880: 31-37 (1999)

32. Chung DC, Smith AP, Louis DN, Graeme-Cook F, Warshaw AL, Arnold A: Analysis of the retinoblastoma tumour suppressor gene in pancreatic endocrine tumours. Clin Endocrinol 47: 523-528 (1997)

33. Chung DC, Smith AP, Louis DN, Graeme-Cook F, Warshaw AL, Arnold A: A novel pancreatic endocrine tumor suppressor gene locus on chromosome 3p with clinical prognostic implications. J Clin Invest 100: 404-410 (1997)

34. Creutzfeldt W, Arnold R, Creutzfeldt C, Deuticke U, Frerichs H, Track NS: Biochemical and morphological investigations of 30 human insulinomas. Correlation between the tumour content of insulin and proinsulin-like components and the histological and ultrastructural appearance. Diabetologia 9: 217-231 (1973)

35. Creutzfeldt W, Arnold R, Creutzfeldt C, Track NS: Pathomorphologic, biochemical, and diagnostic aspects of gastrinomas (Zollinger-Ellison syndrome). Hum Pathol 6: 47-76 (1975)

36. Dano L, Guilly MN, Muleris M, Morlier JP, Altmeyer S, Vielh P, El-Naggar AK, Monchaux G, Dutrillaux B, Chevillard S: CGH analysis of radon-induced rat lung tumors indicates similarities with human lung cancers. Genes Chromosomes Cancer 29: 1-8 (2000)

37. Darling TN, Skarulis MC, Steinberg SM, Marx SJ, Spiegel AM, Turner M: Multiple facial angiofibromas and collagenomas in patients with multiple endocrine neoplasia type 1. Arch Dermatol 133: 853-857 (1997)

38. Doherty GM, Olson JA, Frisella MM, Lairmore TC, Wells SA, Jr., Norton JA: Lethality of multiple endocrine neoplasia type I. World J Surg 22: 581-586 (1998)

39. Evers BM, Rady PL, Sandoval K, Arany I, Tyring SK, Sanchez RL, Nealon WH, Townsend CM, Jr., Thompson JC: Gastrinomas demonstrate amplification of the HER-2/neu proto-oncogene. Ann Surg 219: 596-601 (1994)

40. Evers BM, Rady PL, Tyring SK, Sanchez RL, Rajaraman S, Townsend CM, Jr., Thompson JC: Amplification of the HER-2/neu protooncogene in human endocrine tumors. Surgery 112: 211-217 (1992)

41. Francke U, Kung F: Sporadic bilateral retinoblastoma and 13q- chromosomal deletion. Med Pediatr Oncol 2: 379-385 (1976)

42. Fujii T, Kawai T, Saito K, Hishima T, Hayashi Y, Imura J, Hironaka M, Hosoya Y, Koike M, Fukayama M: MEN1 gene mutations in sporadic neuroendocrine tumors of foregut derivation. Pathol Int 49: 968-973 (1999)

43. Gallie BL, Phillips RA: Retinoblastoma: a model of oncogenesis. Ophthalmology 91: 666-672 (1984)

44. Gobl AE, Berg M, Lopez-Egido JR, Oberg K, Skogseid B, Westin G: Menin represses JunD-activated transcription by a histone deacetylase-dependent mechanism. Biochim Biophys Acta 1447: 51-56 (1999)

45. Goebel SU, Heppner C, Burns AL, Marx SJ, Spiegel AM, Zhuang Z, Lubensky IA, Gibril F, Jensen RT, Serrano J: Genotype/phenotype correlation of multiple endocrine neoplasia type 1 gene mutations in sporadic gastrinomas. J Clin Endocrinol Metab 85: 116-123 (2000)

46. Goebel SU, Iwamoto M, Raffeld M, Gibril F, Hou W, Serrano J, Jensen RT: Her-2/neu expression and gene amplification in gastrinomas: correlations with tumor biology, growth, and aggressiveness. Cancer Res 62: 3702-3710 (2002)

47. Gortz B, Roth J, Krahenmann A, de Krijger RR, Muletta-Feurer S, Rutimann K, Saremaslani P, Speel EJ, Heitz PU, Komminoth P: Mutations and allelic deletions of the MEN1 gene are associated with a subset of sporadic endocrine pancreatic and neuroendocrine tumors and not restricted to foregut neoplasms. Am J Pathol 154: 429-436 (1999)

48. Grotzinger C: Tumour biology of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. Neuroendocrinology 80: 8-11 (2004)

49. Guo SS, Arora C, Shimoide AT, Sawicki MP: Frequent deletion of chromosome 3 in malignant sporadic pancreatic endocrine tumors. Mol Cell Endocrinol 190: 109-114 (2002)

50. Guru SC, Goldsmith PK, Burns AL, Marx SJ, Spiegel AM, Collins FS, Chandrasekharappa SC: Menin, the product of the MEN1 gene, is a nuclear protein. Proc Natl Acad Sci U S A 95: 1630-1634 (1998)

51. Guyatt GH, Sackett DL, Cook DJ: Users' guides to the medical literature. II. How to use an article about therapy or prevention. A. Are the results of the study valid? Evidence-Based Medicine Working Group. Jama 270: 2598-2601 (1993)

52. Guyatt GH, Sackett DL, Sinclair JC, Hayward R, Cook DJ, Cook RJ: Users' guides to the medical literature. IX. A method for grading health care recommendations. Evidence-Based Medicine Working Group. Jama 274: 1800-1804 (1995)

53. Haber DA, Fearon ER: The promise of cancer genetics. Lancet 351: 1-8 (1998)

54. Hadorn DC, Baker D, Hodges JS, Hicks N: Rating the quality of evidence for clinical practice guidelines. J Clin Epidemiol 49: 749-754 (1996)

55. Hahn SA, Schutte M, Hoque AT, Moskaluk CA, da Costa LT, Rozenblum E, Weinstein CL, Fischer A, Yeo CJ, Hruban RH, Kern SE: DPC4, a candidate tumor suppressor gene at human chromosome 18q21.1. Science 271: 350-353 (1996)

56. Hai N, Aoki N, Shimatsu A, Mori T, Kosugi S: Clinical features of multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) phenocopy without germline MEN1 gene mutations: analysis of 20 Japanese sporadic cases with MEN1. Clin Endocrinol 52: 509-518 (2000)

57. Hammel PR, Vilgrain V, Terris B, Penfornis A, Sauvanet A, Correas JM, Chauveau D, Balian A, Beigelman C, O'Toole D, Bernades P, Ruszniewski P, Richard S: Pancreatic involvement in von Hippel-Lindau disease. The Groupe Francophone d'Etude de la Maladie de von Hippel-Lindau. Gastroenterology 119: 1087-1095 (2000)

58. Hao W, Skarulis MC, Simonds WF, Weinstein LS, Agarwal SK, Mateo C, James-Newton L, Hobbs GR, Gibril F, Jensen RT, Marx SJ: Multiple endocrine neoplasia type 1 variant with frequent prolactinoma and rare gastrinoma. J Clin Endocrinol Metab 89: 3776-3784 (2004)

59. Harbour R, Miller J: A new system for grading recommendations in evidence based guidelines. Bmj 323: 334-336 (2001)

60. Harrington EA, Fanidi A, Evan GI: Oncogenes and cell death. Curr Opin Genet Dev 4: 120-129 (1994)

61. He TC, Sparks AB, Rago C, Hermeking H, Zawel L, da Costa LT, Morin PJ, Vogelstein B, Kinzler KW: Identification of c-MYC as a target of the APC pathway. Science 281: 1509-1512 (1998)

62. Heitz PU, Roth J, Zuber C, Komminoth P: Markers for neural and endocrine cells in pathology. In: Gratzl M, Langley L (Hrsg) Markers for neural and endocrine cells. VCH, Weinheim, S. 203-216 (1991)

63. Helou A K-CL, Ollenschläger G: Nutzermanual zur Checkliste "Methodische Qualität von Leitlinien". Schriftenreihe der ÄZQ 1: 45-68 (1999)

64. Helou A, Lorenz W, Ollenschlager G, Reinauer H, Schwartz FW: Methodological standards of the evidence-based approach of clinical guidelines development in Germany. Consensus between the scientific community, self-governed bodies and practice. Z Arztl Fortbild Qualitatssich 94: 330-339 (2000)

65. Helou A, Perleth M, Schwartz FW: Determining priorities in the development of medical guidelines. 1: Criteria, procedures and actors: a methodological review of international experiences. Z Arztl Fortbild Qualitatssich 94: 53-60 (2000)

66. Helou A, Kostovic-Cilic L, Ollenschläger G: Nutzermanual zur Checkliste "Methodische Qualität von Leitlinien". Schriftenreihe der ÄZQ 1: 45-68 (1999)

67. Heppner C, Bilimoria KY, Agarwal SK, Kester M, Whitty LJ, Guru SC, Chandrasekharappa SC, Collins FS, Spiegel AM, Marx SJ, Burns AL: The tumor suppressor protein menin interacts with NF-kappaB proteins and inhibits NF-kappaB-mediated transactivation. Oncogene 20: 4917-4925 (2001)

68. Hessman O, Lindberg D, Skogseid B, Carling T, Hellman P, Rastad J, Akerstrom G, Westin G: Mutation of the multiple endocrine neoplasia type 1 gene in nonfamilial, malignant tumors of the endocrine pancreas. Cancer Res 58: 377-379 (1998)

69. Hessman O, Skogseid B, Westin G, Akerstrom G: Multiple allelic deletions and intratumoral genetic heterogeneity in men1 pancreatic tumors. J Clin Endocrinol Metab 86: 1355-1361 (2001)

70. Hiroshima K, Iyoda A, Shibuya K, Haga Y, Toyozaki T, Iizasa T, Nakayama T, Fujisawa T, Ohwada H: Genetic alterations in early-stage pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma. Cancer 100: 1190-1198 (2004)

71. Hochwald SN, Weiser MR, Colleoni R, Brennan MF, Conlon KC: Laparoscopy predicts metastatic disease and spares laparotomy in selected patients with pancreatic nonfunctioning islet cell tumors. Ann Surg Oncol 8: 249-253 (2001)

72. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC: p53 mutations in human cancers. Science 253: 49-53 (1991)

73. House MG, Herman JG, Guo MZ, Hooker CM, Schulick RD, Lillemoe KD, Cameron JL, Hruban RH, Maitra A, Yeo CJ: Aberrant hypermethylation of tumor suppressor genes in pancreatic endocrine neoplasms. Ann Surg 238: 423-431 (2003)

74. Hughes CM, Rozenblatt-Rosen O, Milne TA, Copeland TD, Levine SS, Lee JC, Hayes DN, Shanmugam KS, Bhattacharjee A, Biondi CA, Kay GF, Hayward NK, Hess JL, Meyerson M: Menin associates with a trithorax family histone methyltransferase complex and with the hoxc8 locus. Mol Cell 13: 587-597 (2004)

75. Jaeschke R, Guyatt G, Sackett DL: Users' guides to the medical literature. III. How to use an article about a diagnostic test. A. Are the results of the study valid? Evidence-Based Medicine Working Group. Jama 271: 389-391 (1994)

76. Jensen RT: Management of the Zollinger-Ellison syndrome in patients with multiple endocrine neoplasia type 1. J Intern Med 243: 477-488 (1998)

77. Kaji H, Canaff L, Lebrun JJ, Goltzman D, Hendy GN: Inactivation of menin, a Smad3-interacting protein, blocks transforming growth factor type beta signaling. Proc Natl Acad Sci U S A 98: 3837-3842 (2001)

78. Karges W, Karges B, Ludwig L, Heidemann PH: Bi-allelic inactivation of the MEN1 tumor suppressor gene in human grade II astrocytoma. Cancer Lett 196: 23-27 (2003)

79. Karges W: Molekulare und klinische Genetik neuroendokriner Tumoren des Gastrointestinaltrakts. Der Onkologe 10: 580-587 (2004)

80. Karges W, Jostarndt K, Maier S, Flemming A, Weitz M, Wissmann A, Feldmann B, Dralle H, Wagner P, Boehm BO: Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) gene mutations in a subset of patients with sporadic and familial primary hyperparathyroidism target the coding sequence but spare the promoter region. J Endocrinol 166: 1-9 (2000)

81. Karges W, Schaaf L, Dralle H, Boehm BO: Concepts for screening and diagnostic follow-up in multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1). Exp Clin Endocrinol Diabetes 108: 334-340 (2000)

82. Karges W, Schaaf L, Dralle H, Boehm BO: Clinical and molecular diagnosis of multiple endocrine neoplasia type 1. Langenbecks Arch Surg 386: 547-552 (2002)

83. Klöppel G, Heitz PU, Capella C, Solcia E: Pathology and nomenclature of human gastrointestinal neuroendocrine (carcinoid) tumors and related lesions. World J Surg 20: 132-141 (1996)

84. Klöppel G, Heitz PU Die disseminierten (diffusen) endokrinen Zellen. In: Doerr W, Seifert G (Hrsg) Spezielle pathologische Anatomie. Springer, Bd 14, Berlin, S.1079-1135 (1981)

85. Klöppel G Heitz PU, Capella C, Solcia E: The spectrum and classification of gastric and duodenal neuroendocrine tumours. Curr Diag Pathol 2: 10-14 (1995)

86. Knudson AG: Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. Proc Natl Acad Sci U S A 68: 820-823 (1971)

87. Komminoth P, Heitz PU, Klöppel G: Pathology of MEN-1: morphology, clinicopathologic correlations and tumour development. J Intern Med 243: 455-464 (1998)

88. Kouvaraki MA, Lee JE, Shapiro SE, Gagel RF, Sherman SI, Sellin RV, Cote GJ, Evans DB: Genotype-phenotype analysis in multiple endocrine neoplasia type 1. Arch Surg 137: 641-647 (2002)

89. Kytola S, Hoog A, Nord B, Cedermark B, Frisk T, Larsson C, Kjellman M: Comparative genomic hybridization identifies loss of 18q22-qter as an early and specific event in tumorigenesis of midgut carcinoids. Am J Pathol 158: 1803-1808 (2001)

90. Kytola S, Nord B, Elder EE, Carling T, Kjellman M, Cedermark B, Juhlin C, Hoog A, Isola J, Larsson C: Alterations of the SDHD gene locus in midgut carcinoids, Merkel cell carcinomas, pheochromocytomas, and abdominal paragangliomas. Genes Chromosomes Cancer 34: 325-332 (2002)

91. La P, Silva AC, Hou Z, Wang H, Schnepp RW, Yan N, Shi Y, Hua X: Direct binding of DNA by tumor suppressor menin. J Biol Chem 279: 49045-49054 (2004)

92. Lairmore TC, Piersall LD, DeBenedetti MK, Dilley WG, Mutch MG, Whelan AJ, Zehnbauer B: Clinical genetic testing and early surgical intervention in patients with multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN 1). Ann Surg 239: 637-645 (2004)

93. Larsson C, Skogseid B, Oberg K, Nakamura Y, Nordenskjold M: Multiple endocrine neoplasia type 1 gene maps to chromosome 11 and is lost in insulinoma. Nature 332: 85-87 (1988)

94. Latif F, Tory K, Gnarra J, Yao M, Duh FM, Orcutt ML, Stackhouse T, Kuzmin I, Modi W, Geil L: Identification of the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene. Science 260: 1317-1320 (1993)

95. Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B: Genetic instability in colorectal cancers. Nature 386: 623-627 (1997)

96. Leotlela PD, Jauch A, Holtgreve-Grez H, Thakker RV: Genetics of neuroendocrine and carcinoid tumours. Endocr Relat Cancer 10: 437-450 (2003)

97. Li-Fern H, Rajasoorya C: The elevated serum alkaline phosphatase--the chase that led to two endocrinopathies and one possible unifying diagnosis. Eur J Endocrinol 140: 143-147 (1999)

98. Lohmann DR, Funk A, Niedermeyer HP, Haupel S, Hofler H: Identification of p53 gene mutations in gastrointestinal and pancreatic carcinoids by nonradioisotopic SSCA. Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol 64: 293-296 (1993)

99. Lollgen RM, Hessman O, Szabo E, Westin G, Akerstrom G: Chromosome 18 deletions are common events in classical midgut carcinoid tumors. Int J Cancer 92: 812-815 (2001)

100. Lubomierski N, Kersting M, Bert T, Muench K, Wulbrand U, Schuermann M, Bartsch D, Simon B: Tumor suppressor genes in the 9p21 gene cluster are selective targets of inactivation in neuroendocrine gastroenteropancreatic tumors. Cancer Res 61: 5905-5910 (2001)

101. Mailman MD, Muscarella P, Schirmer WJ, Ellison EC, O'Dorisio TM, Prior TW: Identification of MEN1 mutations in sporadic enteropancreatic neuroendocrine tumors by analysis of paraffin-embedded tissue. Clin Chem 45: 29-34 (1999)

102. Marx SJ, Agarwal SK, Kester MB, Heppner C, Kim YS, Emmert-Buck MR, Debelenko LV, Lubensky IA, Zhuang Z, Guru SC, Manickam P, Olufemi SE, Skarulis MC, Doppman JL, Alexander RH, Liotta LA, Collins FS, Chandrasekharappa SC, Spiegel AM, Burns AL: Germline and somatic mutation of the gene for multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1). J Intern Med 243: 447-453 (1998)

103. Marx SJ, Agarwal SK, Kester MB, Heppner C, Kim YS, Skarulis MC, James LA, Goldsmith PK, Saggar SK, Park SY, Spiegel AM, Burns AL, Debelenko LV, Zhuang Z, Lubensky IA, Liotta LA, Emmert-Buck MR, Guru SC, Manickam P, Crabtree J, Erdos MR, Collins FS, Chandrasekharappa SC: Multiple endocrine neoplasia type 1: clinical and genetic features of the hereditary endocrine neoplasias. Recent Prog Horm Res 54: 397-438 (1999)

104. McKeeby JL, Li X, Zhuang Z, Vortmeyer AO, Huang S, Pirner M, Skarulis MC, James-Newton L, Marx SJ, Lubensky IA: Multiple leiomyomas of the esophagus, lung, and uterus in multiple endocrine neoplasia type 1. Am J Pathol 159: 1121-1127 (2001)

105. Mechta F, Lallemand D, Pfarr CM, Yaniv M: Transformation by ras modifies AP1 composition and activity. Oncogene 14: 837-847 (1997)

106. Müller W: Erarbeitung von Leitlinien für Diagnostik und Therapie im Rahmen der AWMF. In: Bundesärtzekammer, Kassenärztliche Vereinigung, Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (Hrsg) Curriculum Qualitätssicherung- Ärztliches Qualitätsmanagement. Schriftenreihe der Bundesärztekammer, Bd 10, Köln, S.183-186 (1996)

107. Mulrow CD: Rationale for systematic reviews. Bmj 309: 597-599 (1994)

108. Mutch MG, Dilley WG, Sanjurjo F, DeBenedetti MK, Doherty GM, Wells AS, Goodfellow J, Lairmore TC: Germline mutations in the multiple endocrine neoplasia type 1 gene: evidence for frequent splicing defects. Hum Mutat 13: 175-185 (1999)

109. Namihira H, Sato M, Murao K, Cao WM, Matsubara S, Imachi H, Niimi M, Dobashi H, Wong NC, Ishida T: The multiple endocrine neoplasia type 1 gene product,

menin, inhibits the human prolactin promoter activity. J Mol Endocrinol 29: 297-304 (2002)

110. Nikiforova MN, Nikiforov YE, Biddinger P, Gnepp DR, Grosembacher LA, Wajchenberg BL, Fagin JA, Cohen RM: Frequent loss of heterozygosity at chromosome 3p14.2-3p21 in human pancreatic islet cell tumours. Clin Endocrinol 51: 27-33 (1999)

111. Norton JA: Neuroendocrine tumors of the pancreas and duodenum. Curr Probl Surg 31: 77-156 (1994)

112. O'Brien T, O'Riordan DS, Gharib H, Scheithauer BW, Ebersold MJ, van Heerden JA: Results of treatment of pituitary disease in multiple endocrine neoplasia, type I. Neurosurgery 39: 273-278 (1996)

113. Oberg K: Carcinoid tumors: molecular genetics, tumor biology, and update of diagnosis and treatment. Curr Opin Oncol 14: 38-45 (2002)

114. Ollenschläger G, Helou A, Lorenz W: Kritische Bewertung von Leitlinien. In Kunz R, Ollenschläger G, Raspe H, Jonitz G, Kollmann FW (Hrsg) Lehrbuch Evidenzbasierte Medizin in Klinik und Praxis. Deutscher Ärzte-Verlag, Köln, S.156-176 (2000).

115. Pack S, Turner ML, Zhuang Z, Vortmeyer AO, Boni R, Skarulis M, Marx SJ, Darling TN: Cutaneous tumors in patients with multiple endocrine neoplasia type 1 show allelic deletion of the MEN1 gene. J Invest Dermatol 110: 438-440 (1998)

116. Pannett AA, Thakker RV: Multiple endocrine neoplasia type 1. Endocr Relat Cancer 6: 449-473 (1999)

117. Pannett AA, Thakker RV: Somatic mutations in MEN type 1 tumors, consistent with the Knudson "two-hit" hypothesis. J Clin Endocrinol Metab 86: 4371-4374 (2001)

118. Perren A, Barghorn A, Schmid S, Saremaslani P, Roth J, Heitz PU, Komminoth P: Absence of somatic SDHD mutations in sporadic neuroendocrine tumors and detection of two germline variants in paraganglioma patients. Oncogene 21: 7605-7608 (2002)

119. Perrier ND, Villablanca A, Larsson C, Wong M, Ituarte P, Teh BT, Clark OH: Genetic screening for MEN1 mutations in families presenting with familial primary hyperparathyroidism. World J Surg 26: 907-913 (2002)

120. Phillips RA, Gallie BL: Retinoblastoma: importance of recessive mutations in tumorigenesis. J Cell Physiol Suppl 3: 79-85 (1984)

121. Plockinger U, Wiedenmann B: Neuroendocrine tumors of the gastro-entero-pancreatic system: the role of early diagnosis, genetic testing and preventive surgery. Dig Dis 20: 49-60 (2002)

122. Poisson A, Zablewska B, Gaudray P: Menin interacting proteins as clues toward the understanding of multiple endocrine neoplasia type 1. Cancer Lett 189: 1-10 (2003)

123. Rubin I, Yarden Y: The basic biology of HER2. Ann Oncol 12: 3-8 (2001)

124. Sackett DL, Rosenberg WM, Gray JA, Haynes RB, Richardson WS: Evidence based medicine: what it is and what it isn't. Bmj 312: 71-72 (1996)

125. Sackett DL, Straus SE: Finding and applying evidence during clinical rounds: the evidence cart. Jama 280: 1336-1338 (1998)

126. Scherubl H, Bredeek U, Zimmer T, Riecken EO: Screening for hereditary neuroendocrine tumors of the gastrointestinal-pancreatic system. Z Gastroenterol 34: 186-195 (1996)

127. Schnepp RW, Hou Z, Wang H, Petersen C, Silva A, Masai H, Hua X: Functional interaction between tumor suppressor menin and activator of S-phase kinase. Cancer Res 64: 6791-6796 (2004)

128. Schussheim DH, Skarulis MC, Agarwal SK, Simonds WF, Burns AL, Spiegel AM, Marx SJ: Multiple endocrine neoplasia type 1: new clinical and basic findings. Trends Endocrinol Metab 12: 173-178 (2001)

129. Serrano J, Goebel SU, Peghini PL, Lubensky IA, Gibril F, Jensen RT: Alterations in the p16INK4a/CDKN2A tumor suppressor gene in gastrinomas. J Clin Endocrinol Metab 85: 4146-4156 (2000)

130. Shan L, Nakamura Y, Nakamura M, Yokoi T, Tsujimoto M, Arima R, Kameya T, Kakudo K: Somatic mutations of multiple endocrine neoplasia type 1 gene in the sporadic endocrine tumors. Lab Invest 78: 471-475 (1998)

131. Shapiro SE, Cote GC, Lee JE, Gagel RF, Evans DB: The role of genetics in the surgical management of familial endocrinopathy syndromes. J Am Coll Surg 197: 818-831 (2003)

132. Shioda T, Lechleider RJ, Dunwoodie SL, Li H, Yahata T, de Caestecker MP, Fenner MH, Roberts AB, Isselbacher KJ: Transcriptional activating activity of Smad4: roles of SMAD hetero-oligomerization and enhancement by an associating transactivator. Proc Natl Acad Sci U S A 95: 9785-9790 (1998)

133. SIGN (2001) SIGN 50: a guideline developer's handbook. Edinburgh, SIGN www.sign.ac.uk/guidelines (2001)

134. Skogseid B: Multiple endocrine neoplasia type 1. Br J Surg 90: 383-385 (2003)

135. Solomon E, Borrow J, Goddard AD: Chromosome aberrations and cancer. Science 254: 1153-1160 (1991)

136. Sowa H, Kaji H, Hendy GN, Canaff L, Komori T, Sugimoto T, Chihara K: Menin is required for bone morphogenetic protein 2- and transforming growth factor beta-regulated osteoblastic differentiation through interaction with Smads and Runx2. J Biol Chem 279: 40267-40275 (2004)

137. Sowa H, Kaji H, Kitazawa R, Kitazawa S, Tsukamoto T, Yano S, Tsukada T, Canaff L, Hendy GN, Sugimoto T, Chihara K: Menin inactivation leads to loss of transforming growth factor beta inhibition of parathyroid cell proliferation and parathyroid hormone secretion. Cancer Res 64: 2222-2228 (2004)

138. Stern DF, Heffernan PA, Weinberg RA: p185, a product of the neu proto-oncogene, is a receptorlike protein associated with tyrosine kinase activity. Mol Cell Biol 6: 1729-1740 (1986)

139. Stone S, Jiang P, Dayananth P, Tavtigian SV, Katcher H, Parry D, Peters G, Kamb A: Complex structure and regulation of the P16 (MTS1) locus. Cancer Res 55: 2988-2994 (1995)

140. Terris B, Meddeb M, Marchio A, Danglot G, Flejou JF, Belghiti J, Ruszniewski P, Bernheim A: Comparative genomic hybridization analysis of sporadic neuroendocrine tumors of the digestive system. Genes Chromosomes Cancer 22: 50-56 (1998)

141. Thakker RV: The molecular genetics of the multiple endocrine neoplasia syndromes. Clin Endocrinol 38: 1-14 (1993)

142. Thakker RV: Multiple endocrine neoplasia--syndromes of the twentieth century. J Clin Endocrinol Metab 83: 2617-2620 (1998)

143. Thakker RV: Multiple endocrine neoplasia type 1. Endocrinol Metab Clin North Am 29: 541-567 (2000)

144. Thakker RV: Multiple endocrine neoplasia. Horm Res 56: 67-72 (2001)

145. Thakker RV, Bouloux P, Wooding C, Chotai K, Broad PM, Spurr NK, Besser GM, O'Riordan JL: Association of parathyroid tumors in multiple endocrine neoplasia type 1 with loss of alleles on chromosome 11. N Engl J Med 321: 218-224 (1989)

146. Toliat MR, Berger W, Ropers HH, Neuhaus P, Wiedenmann B: Mutations in the MEN I gene in sporadic neuroendocrine tumours of gastroenteropancreatic system. Lancet 350: 1223-1223 (1997)

147. Tonnies H, Toliat MR, Ramel C, Pape UF, Neitzel H, Berger W, Wiedenmann B: Analysis of sporadic neuroendocrine tumours of the enteropancreatic system by comparative genomic hybridisation. Gut 48: 536-541 (2001)

148. Trump D, Farren B, Wooding C, Pang JT, Besser GM, Buchanan KD, Edwards CR, Heath DA, Jackson CE, Jansen S, Lips K, Monson JP, O'Halloran D, Sampson J, Shalet SM, Wheeler MH, Zink A, Thakker RV: Clinical studies of multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1). Qjm 89: 653-669 (1996)

149. Tsatsanis C, Spandidos DA: The role of oncogenic kinases in human cancer (Review). Int J Mol Med 5: 583-590 (2000)

150. Tsugawa K, Fushida S, Yonemura Y: Amplification of the c-erbB-2 gene in gastric carcinoma: correlation with survival. Oncology 50: 418-425 (1993)

151. Turner JJ, Leotlela PD, Pannett AA, Forbes SA, Bassett JH, Harding B, Christie PT, Bowen-Jones D, Ellard S, Hattersley A, Jackson CE, Pope R, Quarrell OW, Trembath R, Thakker RV: Frequent occurrence of an intron 4 mutation in multiple endocrine neoplasia type 1. J Clin Endocrinol Metab 87: 2688-2693 (2002)

152. Vogelstein B, Kinzler KW: The multistep nature of cancer. Trends Genet 9: 138-141 (1993)

153. Vortmeyer AO, Lubensky IA, Skarulis M, Li G, Moon YW, Park WS, Weil R, Barlow C, Spiegel AM, Marx SJ, Zhuang Z: Multiple endocrine neoplasia type 1: atypical presentation, clinical course, and genetic analysis of multiple tumors. Mod Pathol 12: 919-924 (1999)

154. Wang DG, Johnston CF, Anderson N, Sloan JM, Buchanan KD: Overexpression of the tumour suppressor gene p53 is not implicated in neuroendocrine tumour carcinogenesis. J Pathol 175: 397-401 (1995)

155. Wang EH, Ebrahimi SA, Wu AY, Kashefi C, Passaro E, Sawicki MP: Mutation of the MENIN gene in sporadic pancreatic endocrine tumors. Cancer Res 58: 4417-4420 (1998)

156. Wautot V, Vercherat C, Lespinasse J, Chambe B, Lenoir GM, Zhang CX, Porchet N, Cordier M, Beroud C, Calender A: Germline mutation profile of MEN1 in multiple endocrine neoplasia type 1: search for correlation between phenotype and the functional domains of the MEN1 protein. Hum Mutat 20: 35-47 (2002)

157. Weinberg RA: Tumor suppressor genes. Science 254: 1138-1146 (1991)

158. Weiner DB, Nordberg J, Robinson R, Nowell PC, Gazdar A, Greene MI, Williams WV, Cohen JA, Kern JA: Expression of the neu gene-encoded protein (P185neu) in human non-small cell carcinomas of the lung. Cancer Res 50: 421-425 (1990)

159. Williams ED, Sandler M: The classification of carcinoid tum ours. Lancet 1: 238-239 (1963)

160. Woolf SH: Practice guidelines, a new reality in medicine. II. Methods of developing guidelines. Arch Intern Med 152: 946-952 (1992)

161. Yarden Y: Biology of HER2 and its importance in breast cancer. Oncology 61: 1-13 (2001)

162. Zhao J, de Krijger RR, Meier D, Speel EJ, Saremaslani P, Muletta-Feurer S, Matter C, Roth J, Heitz PU, Komminoth P: Genomic alterations in well-differentiated gastrointestinal and bronchial neuroendocrine tumors (carcinoids): marked differences indicating diversity in molecular pathogenesis. Am J Pathol 157: 1431-1438 (2000)

163. Zhuang Z, Vortmeyer AO, Pack S, Huang S, Pham TA, Wang C, Park WS, Agarwal SK, Debelenko LV, Kester M, Guru SC, Manickam P, Olufemi SE, Yu F, Heppner C, Crabtree JS, Skarulis MC, Venzon DJ, Emmert-Buck MR, Spiegel AM, Chandrasekharappa SC, Collins FS, Burns AL, Marx SJ, Lubensky IA: Somatic mutations of the MEN1 tumor suppressor gene in sporadic gastrinomas and insulinomas. Cancer Res 57: 4682-4686 (1997)

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Guido Adler für die Möglichkeit, diese Arbeit in der Abteilung Innere Medizin I der Universität Ulm durchführen zu können.

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. Wolfram Karges für die Überlassung des Themas und die hervorragende Unterstützung und Betreuung meiner Doktorarbeit.

Ich danke auch dem Gutachter Herrn PD Dr. med Felix Mottaghy für die Korrektur meiner Arbeit.

Ein herzlicher Dank geht an meine Eltern und an meine Geschwister Lotte, Peter und Silja und besonders an meinen Freund Christian. Durch Korrekturlesen und stetige Unterstützung leisteten sie einen wichtigen Beitrag zum Gelingen dieser Arbeit.

Lebenslauf

Angela Speidel

Persönliche Angaben

Geburtstag:	5. April 1981
Geburtsort:	Mutlangen, Deutschland
Staatsangehörigkeit:	Deutsch
Eltern:	Vater: Dr. med. Ulrich Speidel, Kinderarzt
	Mutter: Dr. med. Annette Speidel, Allgemeinmedizinerin

Schulausbildung

1987-1991	Grauleshof-Grundschule, Aalen
1991-2000	Theodor-Heuss-Gymnasium, Aalen
1997	Roncalli College, Timaru, Neuseeland
2000	Abitur

Studium

10/2000	Beginn des Medizinstudiums an der Universität Ulm
08/2002	Ärztliche Vorprüfung
2002/2003	Studienjahr an der Universität Hamburg, Universitätskrankenhaus Eppendorf (UKE)
08/2003	Erstes Staatsexamen
10/2003	Beginn des 2.klinischen Abschnittes an der Universität Ulm
08/2005	Zweites Staatsexamen
vorraus. 04/07	Ärztliche Prüfung

Promotion

seit 01/2004	Promotion an der Abteilung Innere Medizin I der Universität Ulm über: Molekulare und klinische Genetik neuroendokriner Tumoren des Gastrointestinaltrakts. Ein systematischer Literatur-Review.