

Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie,
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Vogt

**p53, Hautpigmentierung und
Vitamin D: Untersuchungen zur
Assoziation der Genvarianten (SNPs)
von Mitgliedern der p53-Familie (p53,
p63, p73) und der 25-Hydroxyvitamin-
D-Serumkonzentration**

*Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der
Medizin*

**der Medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES
2017**

vorgelegt von: Yara Smolczyk
geb. am: 12. April 1987 in Mannheim

Inhaltsverzeichnis

1 Zusammenfassung	5
1.1 Deutsche Zusammenfassung	5
1.2 Summary	7
2 Einleitung und Grundlagen	9
2.1 Vitamin D	9
2.1.1 Vitamin D in der Geschichte der Medizin	9
2.1.2 Vitamin-D-Stoffwechsel	11
2.1.3 Vitamin-D-Regulation	14
2.2 Einzelnukleotidpolymorphismen	15
2.3 Die p53-Familie	16
2.3.1 p53	18
2.3.2 p63	24
2.3.3 p73	25
2.4 Hautpigmentierung	26
2.4.1 Melaninsynthese	26
2.4.2 Einfluss von p53 auf die Hautpigmentierung	27
2.4.3 Assoziation von Pigmentierung und kutaner Vitamin-D-Synthese	31
2.5 Zusammenspiel von Vitamin D, Hautpigmentierung und p53	33
2.6 Fragestellung	34
3 Material und Methoden	37
3.1 <i>Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study (LURIC)</i>	37
3.2 Verwendete Daten der LURIC-Datenbank	38
3.3 Statistische Auswertung	49
3.3.1 Kolmogorow-Smirnow-Test	49
3.3.2 Nicht-parametrische Testverfahren	49

3.3.3	Chi-Quadrat-Test	50
3.3.4	Korrekturverfahren	50
3.3.5	Lineare Regression	51
3.3.6	Überlebenszeitanalyse	51
3.3.7	Einfluss der Jahreszeiten auf den 25(OH)D-Serumspiegel .	51
3.3.8	Abhängigkeit des 25(OH)D-Serumspiegels vom Geschlecht	52
3.4	Schematische Vorgehensweise	52
4	Ergebnisse	55
4.1	Kolmogorow-Smirnow-Test	55
4.2	Nicht-parametrische Testverfahren	56
4.3	Chi-Quadrat-Test	60
4.4	Lineare Regression	60
4.5	Überlebenszeitanalyse	60
4.6	Einfluss der Jahreszeiten auf den 25(OH)D-Serumspiegel	63
4.7	Abhängigkeit des 25(OH)D-Serumspiegels vom Geschlecht	65
5	Diskussion	67
6	Literaturverzeichnis	77
7	Tabellenverzeichnis	89
8	Abbildungsverzeichnis	91
9	Abkürzungsverzeichnis	93
10	Danksagung	95

1 Zusammenfassung

1.1 Deutsche Zusammenfassung

Hintergrund: Der Vitamin-D-Serumspiegel wird neben seinem bereits bekannten Einfluss auf den Kalzium-Phosphat-Haushalt in neueren Studien mit zahlreichen Erkrankungen wie Hypertonie, kardiovaskulären Erkrankungen und der Entstehung von Tumoren in Verbindung gebracht. Die kutane Bildung von Vitamin D selbst wird durch die individuelle Pigmentierung der Haut sowie externe Faktoren wie Lebensstil, Jahreszeit und Breitengrad und die damit verbundene UV-Strahlungsexposition mitbestimmt. Neueste Erkenntnisse deuten auf eine Mitwirkung des bekannten Tumorsuppressors p53 im durch UV-Strahlung induzierten kutanen Pigmentierungsprozess hin. In der vorliegenden Arbeit wurde die Möglichkeit untersucht, ob *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) in Genen der p53-Familie mit möglichem Bezug zur individuellen Hautpigmentierung mit dem Serumspiegel von 25-Hydroxyvitamin D (25(OH)D) assoziiert werden können.

Methoden: Die verwendeten Daten wurden der *Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study* (LURIC)-Studie, bestehend aus einem Kollektiv von 3.316 (hier $n = 3.040$) Patienten kaukasischer Herkunft entnommen. Insgesamt wurden 91 SNPs mit möglicher Assoziation zur Hautpigmentierung untersucht, die sich in den Genen der zur p53-Familie gehörenden Proteine p53, p63 und p73 befinden. Der Median der 25(OH)D-Werte betrug 15,5 ng/ml.

Ergebnisse: Für 4 SNPs ergab sich ein nach der Primäranalyse signifikant erhöhter beziehungsweise erniedrigter 25(OH)D-Serumspiegel ($p < 0,05$, Median

15,5 ng/ml) zwischen den jeweils drei pro SNP möglichen Genotypkombinationen. Diese vier Polymorphismen sind alle im p63-Gen lokalisiert. Im paarweisen Vergleich dieser Genotypkombinationen konnten drei SNPs auch nach Adjustierung ihre statistische Signifikanz ($p < 0,05$) erhalten.

9 SNPs waren mit relativ hohen $\Delta 25(\text{OH})\text{D}$ -Werten ($> 2,8 \text{ ng/ml}$) assoziiert, obgleich das Signifikanzniveau nicht erreicht wurde. Diese Genpolymorphismen befinden sich in p53, p63 und p73. In der linearen Regression, welche für Geschlecht, *body mass index* (BMI), Geburtsjahr und Monat der Blutentnahme adjustiert wurde, konnte ein R^2 (Determinationskoeffizient) zwischen 9,0 % und 9,2 % ermittelt werden. Dies zeigt auf, welcher Anteil der Varianz der $25(\text{OH})\text{D}$ -Werte durch die SNPs erklärt wird.

Anhand der Kaplan-Meier-Kurve und der Cox-Regression wurde der Einfluss der 4 SNPs rs4687087, rs12630584, rs16864784 und rs9681004 auf das Überleben der Patienten untersucht. Es ergab sich keine Signifikanz bezüglich des Überlebensrisikos. Die Untersuchung auf Saisonalität der $25(\text{OH})\text{D}$ -Serumkonzentration zeigte die typischen jahreszeitlichen Schwankungen mit dem stärksten Vitamin-D-Mangel im Winterhalbjahr von November bis April. Beim Vergleich des $25(\text{OH})\text{D}$ -Status männlicher und weiblicher Patienten wies das männliche signifikant ($p < 0,001$) geringere Serumkonzentrationen als das weibliche Geschlecht auf.

Fazit: Im hier untersuchten Kollektiv kaukasischer Herkunft wurden SNPs in Genen der p53-Familie mit möglichem Bezug zur Hautpigmentierung mit dem $25(\text{OH})\text{D}$ -Serumspiegel assoziiert.

Insgesamt 4 der 91 untersuchten Genpolymorphismen zeigten eine signifikante Korrelation mit dem $25(\text{OH})\text{D}$ -Serumspiegel ($p < 0,05$). Diese vier Polymorphismen sind alle im für p63 codierenden Gen lokalisiert. Im paarweisen Vergleich der je drei möglichen Genotypkombinationen ergab sich statistische Signifikanz ($p < 0,05$) für insgesamt drei SNPs. Diese Studie zeigt somit, dass Polymorphismen im p63-Gen mit dem $25(\text{OH})\text{D}$ -Status assoziiert sind.

1.2 Summary

Background: Beside its commonly known influence on the balance of calcium and phosphate, recent studies regarding to numerous diseases as hypertonia, cardiovascular diseases and the tumorigenesis are associated with serum vitamin D level. The cutaneous generation of vitamin D is co-determined by individual skin pigmentation as well as by external factors such as lifestyle, season of year and latitude and the resulting exposition to UV radiation. Newest perceptions indicate the well known tumor suppressor p53 to co-operate in the UV radiation-induced process of cutaneous pigmentation. This study investigates the possibility of an association of SNPs in genes of the p53 family with possible relation to individual skin pigmentation with the serum level of 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D).

Methods: Used data was extracted from the LURIC study, composed of a group of 3,316 (here $n = 3,040$) patients with caucasian origin. Overall, 91 SNPs with potential association on skin pigmentation were analysed. Those SNPs are contained in the proteins p53, p63 and p73 that belong to genes of the p53 family. The median of serum 25(OH)D concentration relating to the entire group, was 15.5 ng/ml.

Results: After primary analysis, 4 SNPs in genes of the p53 family showed a significantly raised or lowered 25(OH)D serum level ($p < 0.05$, median 15.5 ng/ml) for the three different genotype combinations of each SNP. All those polymorphisms are located in the p63 gene. Pairwise comparison of these genotype combinations per SNP resulted in three SNPs with statistical significance ($p < 0.05$) after adjustment.

9 SNPs were associated with relatively high $\Delta 25(\text{OH})\text{D}$ values (>2.8 ng/ml), although the aimed significance level was not reached. Those SNPs are located in genes of the proteins p53, p63, and p73. By using a linear regression model, adjusted for sex, body mass index (BMI), year of birth and month of blood sample, we calculated R^2 as coefficient of determination, between 9.0 % and

9.2%. It explains the part of variance of serum 25(OH)D level that is determined by SNPs.

On basis of Kaplan-Meier analysis and Cox regression, we determined the influence of the 4 SNPs rs4687087, rs12630584, rs16864784, and rs9681004 on patients' survival. There was no significance concerning risks in survival. Analysis on seasonality of serum 25(OH)D levels showed the characteristic seasonal variation with the strongest vitamin D deficiency in the winter period from November to April. The comparison of serum 25(OH)D levels between male and female patients revealed a significantly lower 25(OH)D serum concentration in male gender in our cohort ($p < 0.001$).

Conclusions: In the cohort of caucasian origin presented in this study, polymorphisms with possible reference to skin pigmentation are associated to serum 25(OH)D levels.

In total, 4 of 91 SNPs showed a significant impact on serum 25(OH)D concentration. These four SNPs are all located in the gene coding for p63. Pairwise comparison of the three possible genotype combinations per SNP resulted in three SNPs with statistical significance ($p < 0.05$). This result shows that polymorphisms in the p63 gene are associated with the 25(OH)D status.

2 Einleitung und Grundlagen

2.1 Vitamin D

Unter der Bezeichnung Vitamin D werden eine Gruppe von Steroiden abgeleiteter Moleküle zusammengefasst. In diesem Abschnitt wird näher auf die verschiedenen Formen des Vitamin D, seine Funktionen und Stoffwechselwege eingegangen.

2.1.1 Vitamin D in der Geschichte der Medizin

Durch die ehemals weit verbreitete Rachitis, auch juvenile Osteomalazie genannt, und ihre Behandelbarkeit durch UV-Strahlung, gelangte Vitamin D erstmals ins Zentrum des Interesses. Ursache dieser Knochenmineralisationsstörung ist ein Mangel an Vitamin D [57]. Betroffene Kinder leiden an Wachstumsstörungen, Schädelverformungen und einer schwachen Muskulatur. Noch bevor entdeckt wurde, dass UV-Strahlung einen protektiven Effekt auf das Skelettsystem aufweist, wurde vorzugsweise das Vitamin-D-haltige Dorschleberöl gegen rachitische Beschwerden eingesetzt [47]. Auf industrieller Ebene wurde bis zum Jahr 1950 einer Vielzahl an Nahrungsmitteln wie beispielsweise Milch Vitamin D beigefügt, um Rachitidfällen in der Bevölkerung vorzubeugen.

Beim erstmals 1961/1962 beschriebenen Williams-Beuren-Syndrom, das mit geistiger Retardierung in Verbindung gebracht wird, handelt es sich um eine genetische Erkrankung, bei der im Blut Betroffener erhöhte Kalziumspiegel gemessen werden. Dies liegt an einer bei diesem Syndrom veränderten Regulation des Vitamin-D-Stoffwechsels. Da in England bei betroffenen Patienten unter

Vitamin-D-Substitution erhöhte Kalziumserumspiegel beobachtet wurden, das Williams-Beuren-Syndrom damals allerdings noch nicht bekannt war, wurde die Hyperkalzämie dem Einsatz von Vitamin D zugeschrieben. Folglich wurde Vitamin D in England und auch bald in Europa als Nahrungsmittelzusatz nicht weiter angewandt [47, 50].

Eine im Jahr 2008 von Hintzpeter u. a. durchgeführte deutschlandweite Studie zeigt, dass 69 % der Bevölkerung einen Mangel an 25-Hydroxyvitamin D (25(OH)D) aufweisen (für eine Übersicht über die verwendeten Kategorien siehe Tabelle 1). Dies verdeutlicht, dass mit dem Rückgang der Rachitis auch das Bewusstsein für die Notwendigkeit einer adäquaten Versorgung mit 25(OH)D nachgelassen hatte [44]. Für die individuelle Gesundheitsvorsorge ist heute seitens des Bundesinstituts für Risikobewertung eine maximale tägliche Vitamin-D-Dosis von 200 IE, also 5 µg, bei Erwachsenen vorgesehen [20]. Allerdings wurde in einer umfangreichen Studie gezeigt, dass 200 IE pro Tag nicht ausreichen, um bei der Mehrheit der Probanden eine 25(OH)D-Serumkonzentration von ≥ 10 ng/ml bestimmen zu können, was immer noch einer Mangelsituation entspricht [9]. Noch bedeutender erscheint dieses Ergebnis vor dem Hintergrund, dass der Einfluss von Vitamin D nicht auf die Aktivierung von Genen im Kalzium-Phosphat-Stoffwechsel beschränkt ist, worauf die im Folgenden erwähnten Erkenntnisse einiger Studien hinweisen. Eine sich im Laufe der Zeit verbessernde Analytik hatte sicherlich ihren Anteil daran, dass der Einfluss von Vitamin D in immer zahlreicheren Gebieten erkannt wird.

Klassifizierung	nmol/l	ng/ml
schwere Defizienz	< 12,5 nmol/l	< 5 ng/ml
Defizienz	12,5—25 nmol/l	5—10 ng/ml
leichte Defizienz	25—50 nmol/l	10—20 ng/ml
ausreichende Versorgung	>50 nmol/l	>20 ng/ml

Tabelle 1: 25-Hydroxyvitamin-D-Referenzbereiche nach Hintzpeter u. a. [44]. Zur besseren Übersicht wurden die Werte zusätzlich von nmol/l in ng/ml umgerechnet.

Klassischerweise steigert Vitamin D die Aufnahme und Retention von Kalzium und Phosphat. So wird im Darm vermehrt Kalzium aufgenommen und die renale Sekretion nimmt ab [105]. Ferner wurde gezeigt, dass viele Organe wie zum Beispiel Herz, Magen, Gehirn und Pankreas, aber auch aktivierte Lymphozyten

und die Haut, mit dem Vitamin-D-Rezeptor (VDR) ausgestattet sind. Aktivierte Vitamin D (1,25-Dihydroxyvitamin D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$)) vermittelt seine Wirkung über diesen Rezeptor [46]. Daraus ergibt sich eine Fülle von Vitamin-D-assoziierten Erkrankungen, von denen hier nur einige Aspekte hervorgehoben werden sollen.

Es ist bekannt, dass einige Faktoren wie beispielsweise ein erhöhter Blutdruck für die Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen prädisponieren. $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (Calcitriol) als aktive Form des Vitamin D ist ein inhibierender, endokriner Regulator des die Homöostase bestimmenden Renin-Angiotensin-Regelkreises. Obgleich der genaue Mechanismus noch unbekannt ist, konnte in VDR-Knock-out-Mäusen, bei denen die Wirkung von Vitamin D entkoppelt wurde, eine gesteigerte Renin-Serumkonzentration ermittelt werden: Über das vasokonstriktorisch wirkende Angiotensin II kommt es zu einer Erhöhung des Blutdrucks, was in letzter Konsequenz die Basis für kardiovaskuläre Erkrankungen stellen kann. Erniedrigte Reninspiegel sind hingegen bei $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -Supplementation zu verzeichnen [80]. Eine Zusammenfassung der positiven Korrelation zwischen Serumspiegeln des $25(\text{OH})\text{D}$ und arteriellem Bluthochdruck liegt in der umfangreichen Metaanalyse von Pilz u. a. aus dem Jahr 2009 vor.

Die über mehrere Jahre andauernde Beobachtung des Studienkollektivs der *Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study* (LURIC)-Studie brachte hervor, dass ein niedriger $25(\text{OH})\text{D}$ -Spiegel mit erhöhter kardiovaskulärer Mortalität korreliert. Ein zum Teil aus Kalzium bestehender arterieller Plaque kann mit der Entstehung von kardiovaskulären Erkrankungen einhergehen, wobei Vitamin D durch die Zufuhr von Kalzium zum Knochen eine für die Gefäße protektive Rolle einnimmt. Dies wird durch Studien unterstrichen, in denen ein höherer $25(\text{OH})\text{D}$ -Spiegel das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen herabsetzt [115].

2.1.2 Vitamin-D-Stoffwechsel

Bevor Untersuchungen auf genetischer Ebene bezüglich des Einflusses von Polymorphismen auf den $25(\text{OH})\text{D}$ -Serumspiegel aufgezeigt werden, ist ein Verständnis über die Grundlagen des Vitamin-D-Stoffwechsels hilfreich.

Es sind zwei Formen des Vitamin D zu unterscheiden: Vitamin D₂ und Vitamin D₃. Diese beiden Formen unterscheiden sich strukturell lediglich darin, dass die Seitenkette von Vitamin D₂ zwischen den Kohlenstoffatomen 22 und 23 eine Doppelbindung und an Kohlenstoffatom 24 eine Methylgruppe enthält. Während Vitamin D₃ in tierischen Lebewesen vorkommt, kann Vitamin D₂ über pflanzliche Nahrung aufgenommen werden. Jedoch sind die beiden Moleküle nicht gleich wirksam: Studien zeigen, dass Vitamin D₃ vom Körper wesentlich effizienter umgesetzt wird als Vitamin D₂ [56, 134]. Die Bezeichnungen der verschiedenen Produkte der Verstoffwechslung der beiden Vitamin-D-Formen sind zur besseren Übersicht in Tabelle 2 dargestellt.

	D ₂ -Ableitungen	D ₃ -Ableitungen	gebräuchlicher Begriff
Ausgangssubstanz			
Kürzel	D ₂	D ₃	D
Name	Vitamin D ₂	Vitamin D ₃	Vitamin D
Synonym	Ergocalciferol	Cholecalciferol	
1. Hydroxilierung			
Kürzel	25(OH)D ₂	25(OH)D ₃	25(OH)D
Name	25-Hydroxyvitamin D ₂	25-Hydroxyvitamin D ₃	25-Hydroxyvitamin D
Synonym	Ercalcidiol	Calcidiol	
2. Hydroxilierung			
Kürzel	1,25(OH) ₂ D ₂	1,25(OH) ₂ D ₃	1,25(OH) ₂ D
Name	1,25-Dihydroxyvitamin D ₂	1,25-Dihydroxyvitamin D ₃	1,25-Dihydroxyvitamin D
Synonym	Ercalcitriol	Calcitriol	

Tabelle 2: Formen des Vitamin D (Nomenklatur)

Vitamin D kann, wie in Abbildung 1 gezeigt, als noch inaktiver Vitamin-D-Metabolit über die Nahrung aufgenommen oder vom Körper selbst synthetisiert werden [23]. Während nur ein kleiner Anteil von 5–10 % des Vitamin D oral aufgenommen wird, wird der Hauptanteil von 90–95 % UV-strahlungsabhängig in der Haut gebildet [115]. Im Rahmen der Eigensynthese kommt es in der Leber zur enzymatischen Umwandlung von Cholesterin zu 7-Dehydrocholesterol (7DHC) [23]. Nachdem 7DHC über die Blutbahn in die Keratinozyten der Haut gelangt ist, wird es UV-strahlungsabhängig zu Prä-Vitamin D₃ konvertiert und isomerisiert spontan zu Vitamin D₃. Hierfür ist eine Wellenlänge im Bereich von 280 bis 315 nm von Nöten. Da Vitamine darüber definiert werden, dass der Körper sie nicht selbst synthetisieren, sondern von außen zugeführt bekommen muss, handelt es sich bei Vitamin D strenggenommen nicht um ein Vitamin, sondern ein Prohormon.

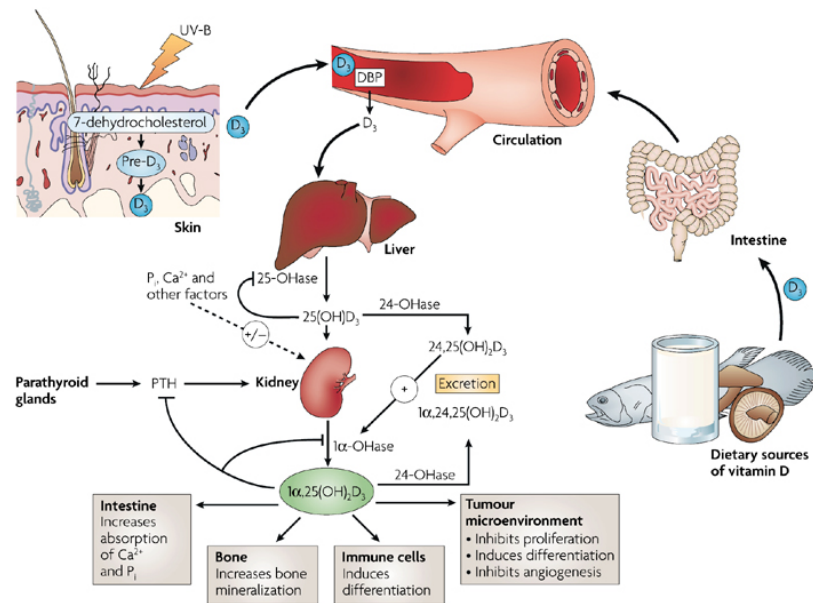


Abbildung 1: Stoffwechselwege des Vitamin D. Quelle: Deeb, Trump und Johnson [16]

Vitamin D, das über die Nahrung aufgenommen oder in der Haut synthetisiert wird, ist inaktiv. Über Carrierproteine wie Vitamin-D-Bindeprotein (VDBP) und Albumin wird es zur Leber transportiert, wo eine erste Hydroxylierung über das Enzym 25-Hydroxylase zu 25(OH)D stattfindet [49]. Diese Form gilt mit seiner langen Halbwertszeit von 2 bis 3 Wochen als Speicherform des Vitamin D, weswegen der Vitamin-D-Status eines Patienten über die Bestimmung des Serumspiegels von 25(OH)D erfolgt [52–54]. 25(OH)D-Serumspiegel von > 50 nmol/l gelten als optimal, wohingegen Werte < 12 nmol/l einen schweren Mangel repräsentieren [51] – siehe auch Tabelle 1 auf Seite 10.

In den proximalen Nierentubuli findet ein zweiter Hydroxylierungsschritt statt, bei dem die Hydroxylierung von 25(OH)D in Position C-1 letztendlich den biologisch aktiven Metaboliten 1,25(OH)₂D hervorbringt. Hierfür wird das Enzym 1α-Hydroxylase benötigt [49]. Diese Form ist die aktive Hormonform, die in Zellen an den VDR binden kann. Der Komplex aus 1,25(OH)₂D und dem VDR wirkt im Zellkern als Transkriptionsfaktor.

Allerdings zeigte sich, dass nicht nur renale Zellen die Fähigkeit zur Umwandlung

von 25(OH)D in das aktive 1,25(OH)₂D innehaben. Auch Keratinozyten, Monozyten und Dickdarmzellen exprimieren das Enzym 1 α -Hydroxylase, welches ihnen die oben genannte Umwandlungsreaktion ermöglicht [46]. Da Keratinozyten zusätzlich zur 1 α -Hydroxylase auch die 25-Hydroxylase aufweisen, sind die Voraussetzungen zur Bildung von 1,25(OH)₂D aus 7DHC erfüllt [75]. Hier dient das 1,25(OH)₂D, im Gegensatz zum zirkulierenden und endokrin wirkenden 25(OH)D, das in der Niere hergestellt wird, eher dem lokalen Eigenbedarf. Es gibt Hinweise darauf, dass es über die Regulation des Zellwachstums einer Entartung entgegen wirkt [47].

2.1.3 Vitamin-D-Regulation

Um seine Wirkung entfalten zu können, muss 1,25(OH)₂D an den VDR binden. Wie bereits erwähnt, ist dieser in einer Vielzahl von Organen lokalisiert. Man unterscheidet zwischen 1,25(OH)₂D, das in der Niere gebildet wird, und lokal entstandenem 1,25(OH)₂D. Das in der Niere gebildete 1,25(OH)₂D reguliert gemeinsam mit Parathormon sowie Calcitonin über Beeinflussung der Knochen, Niere, des Darms und der *Glandula parathyreoidea* die Stabilität des Kalzium-Phosphat-Spiegels. Im Gegensatz dazu gibt es noch verhältnismäßig wenige Informationen über extrarenal gebildetes 1,25(OH)₂D. Es gibt Hinweise darauf, dass lokalisiert wirkendes 1,25(OH)₂D prodifferenzierend wirkt und Vorgänge des Immunsystems beeinflusst [90].

Wie bereits beschrieben sind Leber und Niere entscheidend für die Bildung von aktivem Vitamin D (1,25(OH)₂D). Bei Erkrankungen dieser Organe müsste also folglich ein Vitamin-D-Mangel zu verzeichnen sein. In der Leber erfolgt sowohl die 25-Hydroxylierung als auch die Bildung des Carrierproteins VDBP. Renal entsteht durch eine weitere Hydroxylierung das 1,25(OH)₂D. Es konnte gezeigt werden, dass ein erniedrigter 25(OH)D- bzw. 1,25(OH)₂D-Serumspiegel mit dem Vorliegen chronischer Erkrankungen der Leber sowie Nierenfunktionseinschränkungen assoziiert ist. Bei der Interpretation dieser Daten ist jedoch zu beachten, dass neben der durch die Krankheit verringerten Stoffwechselleistung auch externe Faktoren wie limitierte Aufenthaltsdauer im Freien sowie Malnutrition einen Effekt auf die Serumspiegel haben könnten [70, 111]. Der Vitamin-D-Haushalt wird auf verschiedenen Ebenen reguliert: ein erhöhter Parathormon-

und erniedrigter Kalzium- sowie Phosphatspiegel aktivieren unabhängig voneinander die 1α -Hydroxylase der Niere zur Bildung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ [62]. Das Enzym 25-Hydroxylase katabolisiert sowohl 25-Hydroxyvitamin D_3 ($25(\text{OH})\text{D}_3$) als auch $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, wenn es $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -abhängig aktiviert wird. Die Konzentration von $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ im Blut wird also neben Parathormon (PTH)- und Kalziumspiegel über einen Rückkopplungsmechanismus gesteuert [110]. Die Aktivität der 1α -Hydroxylase der Niere wird genauestens über den Kalzium-, den Parathormonspiegel sowie den vom $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -Spiegel abhängigen Feedbackmechanismus reguliert. In Konsequenz dazu ist, im Gegensatz zu extrarenalen Geweben, die $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -Synthese der Niere vom $25(\text{OH})\text{D}$ -Serumspiegel unabhängig [106]. Somit kann selbst bei niedrigem $25(\text{OH})\text{D}$ -Spiegel auf renalem Weg $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ gebildet werden, während sich extrarenale Zellen womöglich schon in einer Vitamin-D-Mangelsituation befinden. Da die erhöhte Konzentration von $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ im Serum also einen bereits vorliegenden Mangel an $25(\text{OH})\text{D}$ zu verschleiern vermag, ist der $25(\text{OH})\text{D}$ -Spiegel ein zuverlässigerer Parameter zur Bestimmung des Vitamin-D-Gehalts im Körper als der $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -Spiegel [52]. Der Abbau von sowohl $25(\text{OH})\text{D}$ als auch von $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ wird über die 24-Hydroxylase vermittelt (CYP24A1). Es entsteht Calcitronsäure, die über die Galle eliminiert wird [154].

2.2 Einzelnukleotidpolymorphismen

Einzelnukleotidpolymorphismen werden auch als *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) bezeichnet. Ihnen liegt der Austausch (Mutation) einer einzelnen Base des Desoxyribonukleinsäure (DNA)-Doppelstrangs zugrunde. Diese allgemeinen Genvarianten kommen mit einer Häufigkeit von $>1\%$ in einer Population vor. Durch dieses häufige Vorkommen unterscheiden sie sich von anderen Basenaustauschmutationen.

Im Gegensatz zu einer einmaligen Mutation handelt es sich bei *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) um vererbare Ausprägungen, die von funktioneller Bedeutung sein können [4, 11]. So werden in dieser Arbeit Polymorphismen in Genen der p53-Familie auf eine mögliche Assoziation mit der $25(\text{OH})\text{D}$ -

Serumkonzentration und somit möglicherweise eine indirekte Beeinflussung der Hautpigmentierung untersucht.

Da in einem humanen diploiden Chromosomensatz jedes Gen sowohl als väterliches als auch als mütterliches Allel vorliegt, gibt es drei verschiedene Kombinationsmöglichkeiten beziehungsweise Genotypen: homozygot Wildtyp (WT/WT), homozygot SNP (SNP/SNP) und heterozygot (WT/SNP). Die Codierung der einzelnen SNPs erfolgt durch die rs-Nummer (*reference SNP*-Nummer), wie es rs12951053 beispielhaft darstellt. Der jedem einzelnen SNP zugehörige Genotyp wird durch die Anfangsbuchstaben der Nukleoside ersichtlich: **A**denin, **T**hymine, **G**uanin, **C**ytosin. Schätzungen zufolge enthält das Genom des Menschen etwa 10 Millionen SNPs, wobei nur ein geringer Anteil funktionell aktiv ist. Dies ist vor dem Hintergrund zu betrachten, dass die menschliche DNA zum Großteil aus nichtcodierenden DNA-Sequenzen besteht und somit auch viele sogenannte *silent SNPs*, also Einzelnukleotidpolymorphismen ohne Einfluss auf den Organismus, enthält. Der Austausch einer einzelnen Base, sofern diese sich im codierenden Bereich, dem sogenannten Exon, befindet, kann allerdings Veränderungen im Zellstoffwechsel bedingen, da somit die Aminosäurekette und folglich das Protein verändert wird [4, 11].

2.3 Die p53-Familie

Der p53-Familie gehören neben p53 selbst noch die beiden strukturell und funktionell homologen Proteine p63 und p73 an, welche ebenfalls als Transkriptionsfaktoren fungieren [63]. Vergleicht man die Mitglieder der p53-Familie bezüglich ihrer Struktur, ihrer Funktion, ihres Vorkommens in den verschiedenen Gewebearten und ihrer Auswirkung auf den Organismus bei Funktionsverlust (Mutation), stellt man sowohl Parallelen als auch Unterschiede fest.

Betrachtet man ihren Aufbau, so besitzen alle drei Proteine eine N-terminale Transaktivierungsdomäne (TAD) und eine DNA-Bindungsdomäne. Von allen Domänen der Proteine weisen die DNA-Bindungsdomänen von p63 und p73 den höchsten Homologie-Grad zu p53 auf. Sie befähigt die beiden Proteine zur Bindung an Promotoren der p53-Zielgene [19]. So kann p73, nachdem es über

DNA-schädigende Einflüsse aktiviert wird, durch Regulation von p53-Zielgenen selbständig Zellzyklusarrest oder Apoptose einleiten [150]. Auch in der p53-vermittelten Apoptose kommen p63 und p73 ihrer Aufgabe nach, apoptosefördernde Gene zu initiieren [25]. p63 und p73 enthalten am C-terminalen Ende neben der Tetramerisationsdomäne (TD) zusätzlich eine *sterile alpha motif* (SAM)-Region, die an der Protein-Protein-Interaktion beteiligt zu sein scheint. p53 verfügt nicht über diese SAM-Domäne [40]. Die strukturelle Homologie von p63 und p73 führte zu der Frage, ob sie auch in ihrer Funktion p53 stark ähneln. Diese Frage ist noch nicht abschließend geklärt, wenn auch viel darauf hindeutet, dass sie zumindest bei der Apoptoseinduktion eine Rolle spielen könnten [96].

Betrachtet man die Mitglieder der p53-Familie im Hinblick auf die Onkogenese, so wurde beobachtet, dass p53, im Gegensatz zu p63 und p73, in Tumoren ausgesprochen häufig mutiert ist. Im Tiermodell zeigte sich, dass p53-Knockout-Mäuse schon bald nach der Geburt von Tumorwachstum betroffen sind [98]. Dies war bei Funktionsverlust von p63 und p73 nicht der Fall. Ihre Aufgabe bezog sich eher auf die Erhaltung einer physiologischen Entwicklung [5, 21, 147, 149]. In neueren Publikationen konnte jedoch eine Assoziation zwischen erhöhter Anfälligkeit zur Entwicklung von Tumoren und Mutationen in p63 und p73 festgestellt werden. Demnach kommt auch ihnen eine tumorsuppressive Funktion zu [26]. Ein Beispiel hierfür ist das autosomal-dominant vererbte Li-Fraumeni-Syndrom, welches mit einer Veranlagung zur Entwicklung von Tumoren einhergeht. Ihm zugrunde liegt eine Mutation in der DNA-Bindungsdomäne von p53. Im Mausmodell wurde gezeigt, dass p53 nach dieser Mutation die Transkriptionsaktivität von p63 und p73 hemmt, was einen weiteren Interaktionsmechanismus der drei Familienmitglieder demonstriert [61, 73, 97]. Sowohl p53 als auch p63 und p73 können demnach als Tumorsuppressoren wirken. Jedoch scheinen p63 und p73 weitere Funktionen innezuhaben, die von p53 unabhängig sind. Ursächlich dafür sind möglicherweise Unterschiede im C- beziehungsweise N-Terminus.

Alle Mitglieder der p53-Familie werden in verschiedenen Spleißvarianten mit C-beziehungsweise N-terminalen Variationen exprimiert. C-terminal hat p53 nur 26 Aminosäuren, wohingegen p63 insgesamt sechs mögliche Varianten aufweist. Dies könnte die funktionelle Divergenz erklären [21]. Am Beispiel des von einigen Geweben exprimierten Glykoproteins *pigment epithelium-derived factor* (PEDF) wird diese Divergenz deutlich. Als Induktor neuronaler Differenzierung von Re-

tinoblastomzellen und Angiogenesehemmer ist seine Expression von p63 oder p73, jedoch nicht von p53 beeinflussbar. Eine speziell auf p63/p73 ansprechende Promotorregion des PEDF-Gens scheint dafür verantwortlich zu sein [120]. Auch in ihrer Lokalisation gibt es wesentliche Unterschiede. Während p53 in Geweben ubiquitär vorkommt, ist p63 überwiegend in mehrschichtigen Plattenepithelien, genauer in den Stammzellen der Haut zu finden. p73 wird überwiegend in Geweben des zentralen Nervensystems exprimiert [5, 21, 149].

2.3.1 p53

In den folgenden Abschnitten wird das Protein p53 näher vorgestellt. Neben seiner molekularen Struktur wird auch seine Funktion im p53-abhängigen Zellzyklusarrest sowie bei Apoptose und Seneszenz erörtert. Des Weiteren wird auch auf bekannte Mutationsfolgen eingegangen.

Struktur des p53-Proteins

Das humane Tp53-Gen ist auf Chromosom 17p13.1 lokalisiert und codiert für ein 43,5 kDa großes, aus 393 Aminosäuren aufgebautes Protein. Da das Protein über viele Prolinreste verfügt, welche die Bewegung eines Proteins in der *sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE) verlangsamen, schien die Masse des Proteins bei seiner Entdeckung 53 kDa zu betragen, was zu einer fehlerhaften Benennung des Proteins führte [99].

Betrachtet man die strukturelle Organisation des p53-Proteins, so lassen sich folgende funktionelle Domänen abgrenzen: Am N-terminalen Ende liegen zwei Transaktivierungsdomänen (Aktivierungsdomäne (AD)1 und AD2), wobei durch die erste der beiden die Transkription von Zielgenen aktiviert wird. Eine prolinreiche Domäne (PRD) in diesem Sequenzbereich ist für die p53-vermittelte Apoptose von Bedeutung [2, 87, 139]. Die Zuständigkeit der DNA-Bindedomäne bezieht sich auf eine sequenzspezifische Bindung des p53-Proteins an Promotoren seiner Zielgene. In dieser Domäne befindet sich zudem eine 3'→5'-gerichtete Exonukleaseaktivität von p53. Über diese Exonukleaseaktivität kann sich p53 an

DNA-Reparaturprozessen beteiligen [91]. C-terminal aktiviert die TD mehrere p53-Moleküle durch Komplexbildung, denn p53 ist erst nach Zusammenlagerung von vier p53-Proteinen (Tetramerisierung) funktionstüchtig. Dieser Region folgt eine basische Domäne (BD), welche unspezifisch an DNA binden kann, zum Beispiel im Falle einer Beschädigung der DNA. Auch die DNA-Bindedomäne kann über diesen Abschnitt reguliert werden [27, 74].

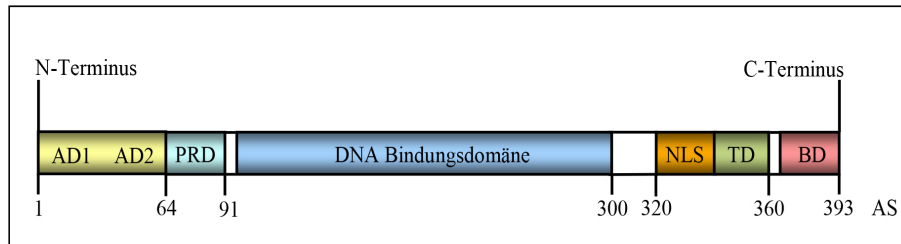


Abbildung 2: Schematische Darstellung der strukturellen Organisation des p53-Proteins. Gezeigt sind die N-terminalen Aktivierungsdomänen (AD1 und AD2), die prolinreiche Domäne (PRD), die sequenzspezifische DNA-Bindungsdomäne, das Kern-Lokalisierungssignal für den Transport in den Zellkern (*nuclear localisation signal*, NLS), die Tetramerisierungsdomäne (TD) und die stark basische Domäne (BD). AS: Aminosäure. Modifiziert nach McKinney und Prives [87].

Biologische Funktionen von p53

Tumorerkrankungen beruhen, vereinfacht betrachtet, auf einem gestörten Gleichgewicht zwischen Proliferation und Apoptose [24]. Als „Wächter des Genoms“ [72] kann p53, nachdem es über zelluläre Stressoren wie DNA-Schäden, Aktivierung von Onkogenen, oxidativen Stress und metabolischen Stress (= genotoxischer Stress) aktiviert wurde, das Ausmaß des DNA-Schadens erkennen [137]. In Konsequenz dazu entscheidet p53, ob es entweder zu vorübergehendem (transientem) Zellzyklusarrest und DNA-Reparatur, zu Seneszenz oder zu Apoptose kommt. Wann p53 einen Zellzyklusarrest und wann es die Apoptose initiiert, wird in einigen Studien diskutiert. Hupp und Lane gehen davon aus, dass es unter der Einwirkung von Stress zu einer stabilisierenden allosterischen Veränderung von p53 kommt. Diese posttranslationale Modifikation von p53 führe zu einer Steigerung der Affinität zu Genen, die den Zellzyklus regulieren. An apoptoseinduzierende Gene würde p53 hingegen schwächer binden [59]. Es gibt allerdings

auch Untersuchungen dahingehend, dass p53 an seine Zielgene binden kann, ohne diese zu aktivieren, auch unter Ausschluss von Stressoren [64]. Obgleich dieser Punkt nicht abschließend geklärt ist, kann festgehalten werden, dass p53 je nach Stimulus und Zelltyp bestimmte Zielgene transkriptionell aktiviert oder reprimiert.

p53-abhängiger Zellzyklusarrest Der Zellzyklus besteht aus vier Phasen, welche von einer proliferierenden Zelle durchlaufen werden und zur Entstehung von zwei Tochterzellen führen: G1 (*gap 1*)-, S (DNA-Synthese)-, G2 (*gap2*)- und M (Mitose)-Phase. Dabei kontrolliert p53 den Zellzyklus an den G1/S- und G2/M-Kontrollpunkten, so dass DNA-Schäden nicht an die Tochterzellen weitergegeben werden [33, 60]. p53 ist normalerweise durch die Bindung an das Protein *mouse double minute 2* (MDM2) inaktiv. Durch DNA-Schädigung kann diese Bindung destabilisiert und p53 somit aktiviert werden [39]. p53 kann nun transkriptionell die Bildung weiterer Proteine wie p21 und 14-3-3 σ induzieren. Sie haben Einfluss auf Enzyme des Zellzyklus, *cyclin-dependent kinases* (CDKs), und können einen Zellzyklusarrest auslösen [7, 145]. Das Retinoblastomprotein (pRB) sorgt im Kontrollpunkt zwischen G1- und S-Phase dafür, dass beschädigte DNA nicht repliziert und somit nicht an die Tochterzellen weiter gegeben wird. Diese Funktion kann es im aktiven, also dephosphorylierten Zustand ausüben. Im Normalfall wird pRB von den Zyklinen D-CDK4/6 und E-CDK2 durch Phosphorylierung inaktiviert, wodurch der Komplex, bestehend aus pRB und dem Transkriptionsfaktor E2F, aufgelöst wird und E2F der Zelle ermöglicht, von der G1- in die S-Phase überzugehen. Bei einem G1-Arrest aktiviert p53 die Expression des CDK-Inhibitors p21. Dies geht mit einer Hemmung von D-CDK4/6 und E-CDK2 einher [145]. Somit bleiben pRB und E2F im Komplex und der verzögerte Eintritt in die S-Phase wird zur Beseitigung von DNA-Schäden genutzt [43]. p53 leitet einen G2-Arrest durch die Expression des Proteins 14-3-3 σ ein. 14-3-3 σ sequestriert den Zyklin-B-CDK1-Komplex, welcher für den Übergang von der G2- in die M-Phase entscheidend ist, und verlagert ihn ins Zytoplasma. Da das Zyklin somit inaktiv bleibt, wird die Mitose verhindert [7].

Zusammengefasst gibt es also zwei essenziell wichtige Kontrollpunkte, an denen p53 Einfluss auf den Zellzyklus nehmen kann: den Übergang von der G1- zur S- sowie von der G2- zur M-Phase.

p53 und Apoptose Wie bereits beschrieben, kann p53 einerseits den Zellzyklusarrest und andererseits den programmierten Zelltod (Apoptose) einleiten. Dabei handelt es sich um einen geregelten Ablauf, der einer strengen Kontrolle durch zelluläre Mechanismen unterliegt [66]. Morphologisch kommt es in der apoptotischen Zelle zunächst zu einer Volumenreduktion. Das kondensierte und fragmentierte Chromatin verlagert sich nun in die Nähe der Kernmembran. Gefördert durch diesen Vorgang kollabiert der Zellkern. Unter der Bildung kleiner apoptotischer Vesikel, welche von Makrophagen phagozytiert werden, löst sich die Zelle auf [82].

Bei irreparablen Schäden der DNA gibt es zwei Wege, auf denen p53 den programmierten Zelltod induzieren kann: Der intrinsische, mitochondrial vermittelte Weg führt zu einer p53-vermittelten transkriptionellen Aktivierung der pro-apoptotischen Proteine der Bcl-Familie (Bax, Bak und Bok). Anti-apoptotische Proteine wie Bcl-2 und Bcl-xL erfahren eine Repression. Die Endstrecke beinhaltet eine Aktivierung von Caspasen sowie die Freisetzung von Cytochrom c aus den Mitochondrien, welche schließlich die Apoptose einleitet [22]. Auch an der rezeptorvermittelten Apoptose des extrinsischen Weges ist p53 beteiligt. Die Todesrezeptoren Fas/CD95 und KILLER/DR5 werden aktiviert und infolge dessen induzieren Caspasen den Zelltod [103, 144]. Eine gesteigerte beziehungsweise reduzierte Apoptoserate wird mit der Entstehung neurogener Erkrankungen, Entwicklungsdefekten [82] und maligner Transformation [136] in Verbindung gebracht.

Neben dem geplanten Zelltod, der Apoptose, bei der p53 eine wichtige Rolle spielt, gibt es auch noch den ungeplanten Zelltod, die Nekrose. Diese beiden Vorgänge dürfen nicht miteinander verwechselt werden: während es sich bei der Apoptose um einen physiologischen Prozess der gezielten Zellelimination handelt, führt die Nekrose zu einem Zelltod unter Gewebeschädigung. Ausgelöst durch Hypoxie, Ischämie oder mechanische Verletzungen kommt es zu einem Anschwellen der nekrotischen Zelle. Sie platzt auf, woraufhin ihr Zellinhalt eine inflammatorische Reaktion auslöst. Die apoptotische und nekrotische Einleitung des Zelltodes sind demnach von einer Vielzahl an Unterschieden geprägt [76, 82].

Seneszenz p53 verfügt über einen weiteren Mechanismus, der die Proliferation von Zellen mit gesteigertem Potenzial zu maligner Transformation verhindern soll. Es handelt sich dabei um einen irreversiblen Arrest in der G1-Phase des Zellzyklus, der als zelluläre Seneszenz bezeichnet wird. Ein komplexes genetisches Programm ermöglicht, dass die Fähigkeit zur DNA-Replikation verloren geht, die sich in Seneszenz befindliche Zelle jedoch metabolisch aktiv bleibt [84]. Sie wird also, im Gegensatz zur apoptotischen Zelle, nicht eliminiert [82].

In Abhängigkeit von der Ursache unterscheidet man zwei verschiedene Seneszenzformen, die telomerunabhängige vorzeitige von der telomerabhängigen replikativen Seneszenz.

Die telomerunabhängige vorzeitige Seneszenz wird durch oxidativen Stress, ausgelöst durch beispielsweise DNA-Schädigung, reaktive Sauerstoffspezies oder aktivierte Onkogene verursacht.

Die telomerabhängige Seneszenz, so wird diskutiert, beruht auf einer durch wiederholte Zellteilung verursachten Telomerverkürzung [8]. Dadurch verlieren sie ihre schützende Funktion an den Chromosomenenden, und als Reaktion auf eine dadurch entstehende Schädigung des DNA-Doppelstrangs geht die Zelle in Seneszenz oder Apoptose. Die Entscheidung darüber wird in Abhängigkeit des entsprechenden Checkpoints getroffen. Gegenüber stehen sich M1-Checkpoint und Crisis-Checkpoint [143]. Die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen sind von hoher Komplexität geprägt, denn weder zwischen Zell- noch zwischen Speziesarten scheint es eine einheitliche Signaltransduktion zu geben.

p53, das auch die Expression seines transkriptionellen Zielgens p21 steigert, wird bei der telomerabhängigen replikativen Seneszenz als entscheidender Induktor dargestellt. In seneszenten Zellen wird häufig eine erhöhte Phosphorylierung von p53 als Zeichen für dessen Aktivitätsniveau beobachtet [141]. Ferner wurde der Signalweg über p16 und das pRB beschrieben. Die Bindung von p16 an CDKs hemmt die Phosphorylierung von pRB, welches nun E2F-Transkriptionsfaktoren inaktiviert. Infolgedessen kann die S-Phase nicht eingeleitet werden und es kommt zum Zellzyklusarrest [125]. Beide Wege können kombiniert oder unabhängig voneinander die beschädigte Zelle via Seneszenz beseitigen [3].

Es kann festgehalten werden, dass p53 an der zentralen Signalgebung in Richtung Reparatur, Seneszenz und Apoptose eine wichtige Funktion auszuführen scheint.

Mutationen im p53-Gen Mutationen im p53-Gen spielen eine entscheidende Rolle bei der Entstehung einer Vielzahl von Tumorerkrankungen. In etwa der Hälfte aller Tumoren lässt sich ein mutiertes p53 nachweisen [55]. So sind beispielsweise Mäuse mit transgenem Trp53^{-/-} schon bald nach der Geburt von Tumorwachstum betroffen [41, 93]. Auch das sogenannte Li-Fraumeni-Syndrom, bei dem es zu diversen Tumoren wie Brustkarzinomen, Sarkomen und Gehirntumoren bereits vor dem 45. Lebensjahr kommen kann, zeigt p53-Mutationen [117]. Meist handelt es sich um *missense*-Punktmutationen der DNA-Bindedomäne. In 30 % der Fälle konzentrieren sich die p53-Mutationen bei Tumorerkrankungen auf wenige Aminosäuren, man nennt sie Hotspot-Mutationen [79]. Sie bedingen einen Verlust der Tumorsuppressorfunktion: p53 kann seine Zielgene nicht mehr transaktivieren, nachdem seine Bindefähigkeit an die DNA gestört wurde [55, 67].

Bei einer Mutation von p53 kommt es allerdings im Gegensatz zu anderen Tumorsuppressorgenen nicht nur zu einer Inaktivierung (*loss of function*), sondern auch zum Zugewinn neuer Fähigkeiten (*gain of function*). Zu diesen Fähigkeiten zählen eine reduzierte Apoptoserate, vermehrte Proliferation und Chemoresistenzmechanismen [6, 79]. Beispielsweise können pro-apoptotische Gene wie Fas/CD95/Apo-1 durch mutiertes p53 (mutp53) supprimiert werden [37]. Es gibt Hinweise darauf, dass es über Protein-Protein-Interaktionen zwischen mutp53 und den Mitgliedern der p53-Familie p63 und p73 zu einem *gain of function* kommt [19]. Bindet mutp53 an Isoformen von p63 beziehungsweise p73, so können diese ihrer Funktion wie beispielsweise den Verlust der Tumorsuppressorfunktion von p53 auszugleichen, nicht mehr nachkommen [18, 30]. In letzter Konsequenz kann die Bindung von mutp53 an p63 dessen Funktion hemmen und Zellmigration, Invasion und Metastasierung fördern [88].

2.3.2 p63

Als bislang letztes Mitglied der p53-Familie wurde 1998 das humane p63-Gen auf Chromosom 3q27-29 identifiziert [147]. Möglicherweise kommt auch p63 eine Funktion als Tumorsuppressor zu.

Während der Funktionsverlust von p53 mit der Entstehung von Tumoren in Verbindung gebracht wird [55], scheint die Ausbildung und Differenzierung verschiedener Gewebe hingegen durch Mutationen im p53-Gen nicht beeinträchtigt zu werden, denn p53-Knock-out-Mäuse zeigen den gleichen Phänotyp wie ihre Wildtyp-Artgenossen [149]. Es wäre möglich, dass auch p63 eine Funktion als Tumorsuppressor zukommt, denn p63^{+/-}-Mäuse entwickeln vermehrt Tumoren wie Plattenepithelkarzinome und histiozytäre Sarkome [26]. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass es bei p63-Knock-out-Mäusen zu einer Fehlentwicklung der Gliedmaßen kommt und ihre Haut keine mehrschichtigen Plattenepithelien sowie Hautanhangsgebilde wie Drüsengewebe aufweist [89, 148]. Das heißt, die Epidermis besteht ausschließlich aus einer dünnen Keratinozytenschicht, wobei die Ausdifferenzierung unterbleibt. Betroffene Mäuse leiden postnatal unter einer ausgeprägten Dehydratationsneigung. Dies ist auf den Einfluss von p63 auf die Hautstammzellen zurückzuführen.

Im humanen Organismus führen Keimbahnmutationen der DNA-Bindedomäne des p63-Gens zum sogenannten EEC-Syndrom (*Ectrodaktyly, Ectodermal dysplasia, Cleft lip*). Der Phänotyp Betroffener fällt durch Spalthand- und -fußbildung, Zahn- und Nageldysplasien, Dyshidrose sowie eine Lippen-Kiefer-Gaumenspalte auf [21, 89, 148]. Betrachtet man das sogenannte AEC-Syndrom (*Ankyloblepharon-Ektodermaldysplasie-Clefting-Syndrom*), so leiden Betroffene unter einer Verklebung der Lidränder, ektodermalen Störungen wie einer spärlichen Kopfbehaarung und der Bildung einer Lippen-Kiefer-Gaumenspalte. Hierfür wird eine Mutation der SAM-Region des p63-Gens verantwortlich gemacht [86].

Eine Hypothese besagt, dass sich diese typischen Erkrankungsbilder von einer Störung des im Ektoderm exprimierten p63 während der Embryonalentwicklung ableiten [89]. Eine andere Arbeitsgruppe hingegen spricht die Funktion von p63 der epithelialen Entwicklung zu [148].

Festgehalten werden kann, dass p63 nur in bestimmten Geweben exprimiert wird und nicht ubiquitär vorliegt, wie es bei p53 der Fall ist.

2.3.3 p73

Das zu p73 gehörige Gen, welches sich auf Chromosom 1p36.3 befindet, wurde im Jahr 1997 identifiziert [65].

Obgleich es einige Unterschiede zwischen p53 und seinen übrigen Familienmitgliedern zu geben scheint, weisen p73 und p53 zum Teil vergleichbare Eigenschaften auf. So beeinflusst p73 die Apoptose und den Zellzyklusarrest, indem es Zielgene des Tumorsuppressors p53 wie bax, p21 und 14-3-3 σ transaktiviert. Dies wird, genau wie im Falle von p53, durch eine Schädigung des DNA-Doppelstrangs induziert [40].

Die Rolle von p73 in der Tumorentstehung hingegen ist noch nicht ausreichend geklärt. Beim Transkriptionsfaktor E2F1 handelt es sich um ein Onkogen. Im Gegensatz zu p53, das durch E2F1 indirekt aktiviert wird, geschieht dies bei p73 auf direktem Wege. Die Anlagerung von E2F1 aktiviert p73, welches nun die Apoptoserate in Tumorzellen erhöht. Ist p73 hingegen inhibiert, findet auch keine E2F1-induzierte Apoptose statt [130]. Forschungsergebnisse aus dem Jahr 2005 zeigen, dass sowohl p73 als auch p63 eine tumorsupprimierende Funktion zukommt. p73^{+/-}-Mäuse wiesen eine erhöhte Anfälligkeit für die Entstehung maligner Tumoren auf. Dieses Risiko erhöhte sich bei einer kombinierten Mutation von p53 und p73 in p53^{+/-}/p73^{+/-}-Mäusen. Es handelte sich unter anderem um Adenokarzinome der Lunge, Hämangiosarkome und Thymome [26].

Im Gegensatz dazu postulieren zahlreiche Studien eine gesteigerte Expression von p73 in Tumorentitäten wie dem Neuroblastom, dem Kolorektalen-Karzinom und dem Mammakarzinom. Demnach könnte p73 neben den zuvor beschriebenen tumorsuppressiven Eigenschaften ein onkogenes Potenzial zugesprochen werden [68, 132, 151]. Des Weiteren wurde gezeigt, dass p73 einen entscheidenden Effekt auf die Entwicklung neuronaler Strukturen hat. Eine hohe postnatale Mortalität, Entwicklung eines Hydrozephalus, Degeneration des Hippocampus, chronische Infektionen, Entzündungen und eine gestörte Pheromondetektion mit abnormen

Paarungsverhalten sind die Folge funktioneller Inaktivität in allen p73-Isoformen im Mausmodell [149].

Vergleicht man p73 mit dem typischen Tumorsuppressor p53, so ist seine Funktion womöglich als bedeutend komplexer einzustufen.

2.4 Hautpigmentierung

UV-Strahlung kann DNA-Schäden verursachen. Um dem entgegenzuwirken, bildet die Haut Pigmentierung aus, die die UV-Strahlung teilweise absorbiert. In neueren Publikationen konnte gezeigt werden, dass p53 auf diesen Prozess Einfluss nehmen kann. Daher wird im Folgenden näher auf die Pigmentierung der Haut und den Einfluss, den p53 möglicherweise darauf nehmen kann, eingegangen.

2.4.1 Melaninsynthese

Menschliche Haut existiert in vielen verschiedenen Farbvarianten. Diese verschiedenen Farben entstehen, da humane Melanozyten Eumelanin (braun-schwarz) und Phäomelanin (rot-gelb) exprimieren, wobei ihr Mengenverhältnis die individuelle Pigmentierung bestimmt [131]. Diese Moleküle fangen durch UV-Einstrahlung entstehende freie Radikale ab und schützen die Haut so vor UV-bedingter DNA-Schädigung [104].

Melanozyten enthalten Melanosomen, in denen das Melanin gebildet wird. Vermehrte *cyclic adenosine monophosphate* (cAMP)-Synthese bewirkt, dass melanozytenstimulierendes Hormon (α -MSH) an seinen Rezeptor, den Melanocortin-1-Rezeptor (MC1R), bindet. Microphthalmie-assoziiierter Transkriptionsfaktor (MITF) wird dadurch exprimiert und aktiviert die Tyrosinase der Melanosomen [34, 113]. Nun wird Tyrosin zu Dihydroxyphenylalanin (DOPA) und Dopachinon oxidiert, wobei Dopachinon im Anschluss entweder zu Eumelanin oder Phäomelanin umgewandelt wird [81].

Das Verhältnis der beiden Melanine wird durch ein kompliziertes Netzwerk von Molekülen gesteuert. Da Cystein für die Synthese von Phäomelanin essenziell ist, führt beispielsweise ein erniedrigter Cysteinspiegel, hervorgerufen durch starke MC1R-Induktion, zu vermehrter Eumelaninsynthese [11]. Eine gesteigerte Phäomelaninproduktion wird, neben der MC1R- vermittelten Regulation des Cysteinspiegels, auch durch Abnahme des cAMP-Spiegels bewirkt, basierend auf der Bindung von *agouti signalling protein* (ASIP) an den MC1R [81]. Umgebende Keratinozyten nehmen die von Melanozyten synthetisierten reifen Melanosomen auf [29].

Diese Signalwege erhalten das individuelle Gleichgewicht zwischen Phäo- und Eumelanin und sorgen somit für den jedem Individuum eigenen Hautton.

2.4.2 Einfluss von p53 auf die Hautpigmentierung

Im Jahr 1979 wurde p53 von DeLeo u. a. zum ersten mal beschrieben [17]. Kein anderes Tumorsuppressorgen wurde seitdem so intensiv untersucht. So ist es umso erstaunlicher, dass im März 2007 völlig neue Erkenntnisse über die Funktion von p53 veröffentlicht wurden. Forscher der *Harvard Medical School* in Boston, USA, publizierten, dass p53 UV-strahlungsabhängig aktiviert wird und die Hautbräunung induziert [15].

Humane Haut ist aus drei verschiedenen Schichten aufgebaut. Die Epidermis, die oberste Hautschicht, besteht aus *Stratum corneum*, *lucidum*, *granulosum*, *spinosum* und *basale*. Das *Stratum basale* befindet sich in ständiger Mitose, was der Erneuerung der Epidermis dient. Hier finden sich neben den Langerhanszellen des Immunsystems die für die Hautpigmentierung wichtigen Melanozyten. Unter der Epidermis befinden sich Dermis (*Corium*) und *Subcutis* [123]. Entscheidend für die Forschungen von Cui u. a. sind Erkenntnisse vorheriger Studien, in denen Proopiomelanocortin (POMC) in Keratinozyten und Melanozyten der Haut gefunden wurde [10]. POMC und seine Spaltprodukte α -, β -, γ -MSH, Adrenocorticotropin (ACTH), β -Endorphin und β -Lipotropes-Hormon, wurden ursprünglich im Hypophysenvorderlappen entdeckt. Die aus hypophysär gebildetem POMC hervorgehenden Melanocortine α -MSH und ACTH wirken über MC1R-Transmembranrezeptoren in Melanozyten und Keratinozyten und

modifizieren somit die Hautpigmentierung [78]. UV-Strahlung bewirkt, neben gesteigerter Melaninsynthese, auch die Übergabe von Melanin an umgebende Keratinozyten, wodurch die Haut vor UV-bedingter Schädigung geschützt wird [35]. Die Bildung dieser Peptide ist jedoch nicht nur auf die Hypophyse begrenzt: viele Gewebe verfügen über diese Synthesefähigkeit. Man fand heraus, dass die Expression des POMC-Gens auch in Keratinozyten und Melanozyten humaner Haut zu finden ist [10]. Der Unterschied zwischen hypophysärer und peripherer POMC-Expression liegt vermutlich in der abweichenden Länge der Transkriptionsprodukte. Es wird angenommen, dass das N-terminale Signalpeptid, das sein Transkript zur Ausschleusung aus dem Synthesekompartiment befähigt, in den kürzeren Transkripten peripherer Gewebe fehlt. Dies würde bedeuten, dass POMC in peripheren Geweben wie der Haut vorrangig intrazellulär wirkt [71].

Sonnenstrahlung ist der Ausgangspunkt für zwei wesentliche sich in der Haut abspielende Mechanismen, die beide in Zusammenhang mit der Aktivierung von p53 stehen. Sie werden in Abbildung 3 dargestellt und im Folgenden näher beschrieben.

Der erste Mechanismus bezieht sich auf die Funktion von p53 als Tumorsuppressor. UV-strahlungsbedingter DNA-Schaden aktiviert p53, welches über die Einleitung eines Zellzyklusarrests der Zelle zusätzliche Zeit verschafft und somit Reparaturmechanismen ermöglicht. Direkte UV-bedingte DNA-Schäden, *cyclobutane pyrimidine dimers* (CPDs), werden via Nukleotidexzisionsreparatur korrigiert, wohingegen die Zelle bei nicht korrigierbarer Schädigung in Apoptose geht. Somit wird die Akkumulation von Mutationen und eine maligne Transformation von Zellen verhindert [42].

Der zweite Regulationsmechanismus, über den p53 Einfluss auf die Hautpigmentierung nimmt, blieb lange unerkannt. Es wurde gezeigt, dass nach Bestrahlung kutaner Keratinozyten der Promotor des POMC-Gens über direkte Bindung von p53 induziert wird. Messungen ergaben, dass es nach UV-Exposition muriner und humaner Keratinozyten zu einem zeitlich versetzten Anstieg zunächst von p53 und daraufhin von POMC kommt [15]. Durch die darauffolgende Freisetzung der Melanocortine α -MSH und ACTH wird der MC1R stimuliert. Am Ende der

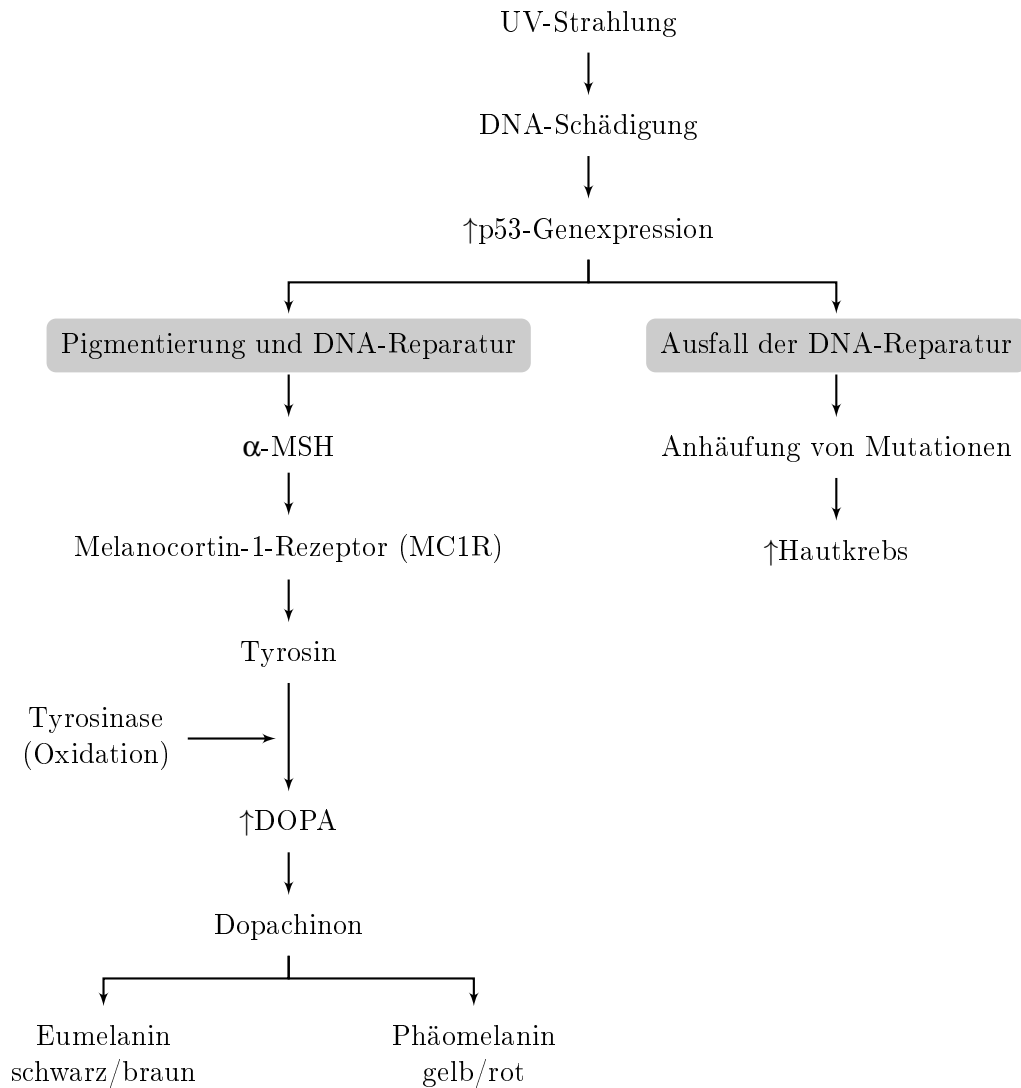


Abbildung 3: UV-bedingte Karzinogenese und Mechanismen der Hautpigmentierung auf molekularer Ebene. Nachdem p53 durch UV-bedingte DNA-Schädigung aktiviert wird, leitet es Hautpigmentierung und DNA-Reparatur ein. p53 induziert α -MSH, welches an den MC1R bindet. Diese Bindung vermittelt die Aktivierung des Enzyms Tyrosinase, welches die Oxidation von Tyrosinen einleitet. DOPA wird vermehrt gebildet und aus Dopachinon entsteht entweder Eumelanin oder Phäomelanin (linke Seite). In Zellen die der DNA-Reparatur entkommen, werden UV-bedingte Mutationen angehäuft. Mögliche Konsequenz ist die Entstehung von Hautkrebs (rechte Seite) [42].

Reaktionskette steht entweder die Bildung von Phäomelanin oder Eumelanin über das Enzym Tyrosinase [42].

Mäuse mit mutiertem p53 zeigten nach UV-Exposition keine erhöhte keratinozytäre Induktion von POMC, was dessen Abhängigkeit von p53 verdeutlicht. Allerdings scheint p53 für die POMC-Induktion nicht generell benötigt zu werden, denn selbst ohne UV-Exposition konnte in Keratinozyten mit mutiertem p53 keine bedeutend verminderte POMC-Konzentration ermittelt werden, was der dunkle Phänotyp der Mäuse veranschaulicht [15]. Auch eine konsequente Abhängigkeit des Pigmentierungsvorgangs von UV-Strahlung als Reaktionsinitiator scheint nicht gegeben zu sein: 5-Fluoruracil wirkt zytostatisch und wird in der Behandlung der aktinischen Keratose, Plattenepithelkarzinomen, Basaliomen und Warzen eingesetzt [77]. Wird es über längeren Zeitraum lokal aufgetragen, ist bei Mäusen mit funktionsfähigem p53, entsprechend seiner Funktion als p53-Induktor, eine Überpigmentierung festzustellen. Es scheint also neben der Sonnenexposition weitere Mediatoren zu geben, die Einfluss auf die p53-vermittelte Pigmentierung haben könnten.

Ein weiteres Beispiel stellt das Basalzellkarzinom (BCC) dar. Das BCC ist, neben der Aktivierung des Hedgehog-Signalwegs, auch mit der Mutation von p53 assoziiert. Bei den BCCs, die eine p53-Mutation aufweisen, konnte keine MITF-Erhöhung, welche als Maß für melanozytäre Besiedlung verwendet wird, gemessen werden. Somit wird vermutet, dass p53 hier ungeachtet der Sonnenexposition in p53-Wildtyp-BCCs die Pigmentierung vermitteln kann. Die Daten von Cui u. a. weisen darauf hin, dass in p53-Wildtyp-BCCs die p53-vermittelte Induktion von POMC zu α -MSH-Bildung im Tumor und möglicherweise zu melanozytärer Besiedlung führt [15].

Die Untersuchungen ergaben keine Beschränkung UV-bedingter POMC-Induktion durch p53 auf Keratinozyten, allerdings stellte sich die oben genannte Induktion in Fibroblasten und Melanozyten in weit geringerem Ausmaß dar. p53 scheint Einfluss auf die Gene des POMC-Systems zu nehmen und somit neben der α -MSH-vermittelten Hautbräunung auch eine Ausschüttung von β -Endorphin zu bewirken. β -Endorphin gehört zur Gruppe der Opiode und könnte durch seinen stimmungsaufhellenden Effekt dafür verantwortlich sein, dass sich Menschen vom Sonnenlicht angezogen fühlen [15].

Zusammenfassend gibt es Hinweise darauf, dass p53 sowohl UV-strahlungsabhängig als auch -unabhängig in BCCs und unter Einbeziehung von Chemikalien wie 5-Fluoruracil an Pigmentierungsprozessen beteiligt sein könnte. Die p53-vermittelte Steigerung der Melaninsynthese könnte somit durch eine erhöhte UV-Absorptionskapazität vor zukünftiger UV-bedingter Genomschädigung schützen. Es würde sich also um eine indirekte Prävention vor kutanen Malignomen handeln, während p53 zusätzlich als bekannter „Wächter des Genoms“ direkt die DNA-Reparatur einzuleiten vermag. Auch im Mausmodell zeigte sich, dass vor dem Hintergrund eines mutierten p53-Tumorsuppressorgens eine fehlende Bräunungsreaktion sowie das Risiko maligner Zelltransformation nach UV-Exposition zu erwarten ist [15]. p53 würde somit in zweierlei Hinsicht, nämlich direkt durch die Initiation der DNA-Reparatur sowie indirekt durch die Hautpigmentierung, eine Schutzfunktion vor UV-bedingter Schädigung zukommen.

2.4.3 Assoziation von Pigmentierung und kutaner Vitamin-D-Synthese

Die Bildung von Melanin hat zwei Effekte: einerseits dient es durch seine UV-absorbierende Eigenschaft als Schutz vor DNA-Schädigung, andererseits limitiert es die Fähigkeit der Haut, Prävitamin D₃ herzustellen. Untersuchungen an hell- sowie dunkelpigmentierten Individuen ergaben, dass beide Gruppen über die gleiche Fähigkeit zur Vitamin-D-Bildung verfügen. Allerdings sind bei hellem Hauttyp eine bedeutend niedrigere UV-Dosis sowie -Expositionszeit nötig, um vergleichbare Vitamin-D₃-Serumspiegel bestimmen zu können [49].

Da der Hauptanteil an Vitamin D UV-strahlungsabhängig in der Haut gebildet wird, stellte die Sonnenlichtexposition einen wichtigen, die Evolution beeinflussenden Faktor dar. Mit zunehmender Entfernung vom Äquator nimmt die Intensität der UV-Strahlung ab. Es wird angenommen, dass mit Vitamin-D-Mangel assoziierte Erkrankungen wie beispielsweise Skelettdeformierungen zu Selektion und Entwicklung eines helleren Hauttyps, der die UV-Strahlung weniger stark absorbiert und eine ausreichende Vitamin-D-Synthese trotz geringerer UV-Dosis zulässt, führte. Somit ergibt sich eine vom Breitengrad abhängige Pigmentierungsstärke, wobei bei Menschen in Äquatornähe eine dunkle Pigmentierung, die jedoch noch die Bildung von Vitamin D₃ zulässt, verblieb.

Des Weiteren ist eine Abhängigkeit des 25(OH)D-Spiegels von der Jahreszeit und den Wetterbedingungen zu verzeichnen [115]. Beobachtungen zufolge tritt Vitamin-D-Mangel in Australien, USA und Asien signifikant seltener auf als in Europa. Allerdings wird in einer großen Metaanalyse keine Assoziation zwischen Vitamin-D-Serumkonzentration und Breitengrad festgestellt [38]. In Europa wurde sogar eine Längengradabhängigkeit der Vitamin-D-Serumspiegel ermittelt, wobei in Südeuropa im Vergleich zu Skandinavien überraschenderweise niedrigere Werte gemessen wurden. Grund könnte die konsequentere Nahrungsergänzung mit Vitamin D und ein geringeres UV-präventives Verhalten der Skandinavier sein [102]. Auch Patienten, die an der seltenen Erbkrankheit *Xeroderma pigmentosum* leiden, können Veränderungen im 25(OH)D-Serumspiegel aufweisen. Wegen eines genetischen Defekts, der die DNA-Reparaturenzyme betrifft, fehlt der Haut betroffener Individuen die Regenerationsfähigkeit nach UV-bedingter Schädigung. Aufgrund therapeutisch induzierter konsequenter Vermeidung von Sonnenexposition können bei unzureichender oraler Vitamin-D-Supplementation nur geringe 25(OH)D-Konzentrationen gemessen werden [69, 114]. Normale Konzentrationen ergeben die Spiegel von 1,25(OH)₂D, Parathormon sowie Kalzium [128]. Neben externen Einflussgrößen wie z. B. dem Lebensstil existieren auch zahlreiche interne Faktoren, die den Vitamin-D-Haushalt beeinflussen. Dazu zählen unter anderem individuelle Pigmentierungsstärke sowie altersabhängig nachlassende kutane Konzentration an 7DHC, wodurch weniger Vitamin D gebildet werden kann. Unter Beachtung dieser Einflussfaktoren ist eine dem individuellen Bedarf an 25(OH)D entsprechende Sonnenexposition bei gleichzeitiger Limitierung UV-bedingter Schädigung der Haut sinnvoll [115].

2.5 Zusammenspiel von Vitamin D, Hautpigmentierung und p53

Die Bedeutung von p53 als Tumorsuppressor ist ausgiebig erforscht worden. Auch die Rolle des Melaningehalts in Zusammenhang mit dem Risiko, an Hautkrebs zu erkranken, wurde von Yamaguchi u. a. verdeutlicht. Demnach ist der kutane Melaningehalt eine bedeutende Einflussgröße bei UV-induzierter Entstehung von Hautkrebs, indem eine geringere Pigmentierung mit gesteigerter Anfälligkeit einhergeht. Sowohl eine geringe Melaninkonzentration und somit limitierte Fähigkeit zur UV-Absorption als auch die ineffizientere Apoptose bei hellhäutigen Individuen könnten dieses Ergebnis begründen. Ferner wird darauf hingewiesen, dass eine UV-bedingte Schädigung von Keratinozyten der Basalzellschicht, die der Regeneration dienen, einen bedeutenderen Einfluss auf maligne Transformation haben könnte als die Schädigung oberflächlicher Keratinozyten [146]. Welchen Einfluss Vitamin D im Prozess der Karzinogenese ausübt, wird aktuell in zahlreichen Studien diskutiert. Hinweise darauf, dass eine Vielzahl von Krebsarten wie zum Beispiel Kolon-, Prostata-, und Lungenkarzinome bei ausreichender Sonnenexposition seltener auftreten, blieben lange unerkannt. Man schätzt, dass zu geringe UV-Strahlungsexposition und 25(OH)D-Mangel für bis zu 10 % der Karzinome, die einen letalen Ausgang nahmen, verantwortlich sein können [36]. Auch eine Assoziation zwischen verminderter Mortalität an Krebserkrankungen und höheren 25(OH)D-Serumkonzentrationen wurde festgestellt [108]. Dass zwischen innerhalb des Körpers vorkommenden Karzinomen und Hautkrebs ein Unterschied der Inzidenz in Abhängigkeit von der UV-Exposition besteht, wird von Tuohimaa u. a. postuliert. Während Melanome mit Sonnenbränden und nichtmelanozytäre Karzinome mit kontinuierlicher über das Leben verteilte Sonnenexposition in Verbindung gebracht werden, verdichten sich Hinweise bezüglich einer präventiven Funktion von 25(OH)D vor der Entstehung solider Tumoren [135]. Der genaue Mechanismus, wie Vitamin D der Krebsentstehung entgegenwirkt, ist noch nicht ausreichend geklärt. Allerdings werden bereits einige Effekte hervorgehoben. Eine Studie aus dem Jahr 2009 verwies auf die Funktion von Vitamin D als Förderer des Zellzusammenhalts, welcher antiproliferative Effekte nach sich zieht [31]. Es wird vermutet, dass die antiproliferative und zelldifferenzierungsfördernde Wirkung von aktivem Vitamin D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$) einen bedeutenden Einfluss auf die Karzinogenese nimmt.

In diesem Zusammenhang ist auch zu erwähnen, dass Metabolite des Vitamin-D-Stoffwechsels in Mechanismen wie Apoptoseeinleitung, Entzündungshemmung sowie Beeinflussung von Metastasierung involviert zu sein scheinen [107].

Sowohl Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems als auch maligne Tumoren gehören zu den Haupttodesursachen der deutschen Bevölkerung [118]. Betrachtet man die Hinweise darauf, dass Vitamin D an ihrer und an der Entstehung multipler anderer Erkrankungen beteiligt zu sein scheint, wird die Wichtigkeit der Durchführung weiterer Untersuchungen des Vitamin-D-Stoffwechsels auch auf genetischer Ebene deutlich.

2.6 Fragestellung

Aufgrund der großen gesundheitlichen Bedeutung des Vitamin-D-Status sind Untersuchungen über die Ursachen des Vitamin-D-Mangels von großer Relevanz. Bisher gibt es allerdings nur wenige Untersuchungen zu genetischen Determinanten des Vitamin-D-Status.

Der 25(OH)D-Serumspiegel ist von einer Vielzahl von Einflussgrößen wie individuellem Pigmentierungstyp sowie Lebensstil, Jahreszeit und Breitengrad und der damit verbundenen UV-Strahlungsexposition abhängig. Vor diesem Hintergrund ist das Ziel der vorliegenden Arbeit, Gene der p53-Familie, die in möglichem Zusammenhang mit der individuellen Hautpigmentierung stehen, bezüglich einer Assoziation mit dem 25(OH)D-Serumspiegel zu untersuchen. Die Polymorphismus-Analysen umfassten hierbei insgesamt 91 SNPs. Konkret sollte geprüft werden, ob SNPs in den zu p53 und seinen Familienmitgliedern p63 und p73 gehörenden Genen mit einer Erhöhung oder Verringerung der 25(OH)D-Serumkonzentration assoziiert sind. Diese Frage könnte zukünftig dahingehend relevant werden, eine weitere dem weit verbreiteten Vitamin-D-Mangel zugrunde liegende Einflussgröße ausfindig zu machen.

Folgende Fragestellungen sollten in der vorliegenden Arbeit geklärt werden:

1. Besteht eine Assoziation zwischen genetischen Polymorphismen der p53-Familie und dem 25(OH)D-Serumspiegel?
2. Auf welche genaue Genotypsequenz eines SNPs ist ein möglicherweise erhöhter beziehungsweise erniedrigter 25(OH)D-Serumspiegel zurückzuführen?
3. Kommt es zu einer Überrepräsentation einer der drei möglichen SNP-Genotypvarianten nach Aufteilung des 25(OH)D-Serumspiegels in Tertile?
4. Welcher Anteil der Varianz der 25(OH)D-Serumkonzentration wird durch die identifizierten SNPs beziehungsweise deren Genotypkombinationen erklärt?
5. Ist das Überlebensrisiko abhängig von der Gruppenzugehörigkeit zu einer der drei möglichen Genotypvarianten (z. B. GG, GC, CC) eines SNPs?
6. Welchen Einfluss hat die Jahreszeit auf den Vitamin-D-Serumspiegel?
7. Besteht ein Unterschied im Vitamin-D-Serumspiegel in Abhängigkeit vom Geschlecht?

3 Material und Methoden

3.1 *Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study (LURIC)*

Als eine der häufigsten Todesursachen stehen kardiovaskuläre Erkrankungen im Mittelpunkt wissenschaftlichen Interesses. Obgleich bereits einige Risikofaktoren wie Hypertonie, metabolisches Syndrom und Nikotinabusus bekannt sind, sollte die *Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study (LURIC)*-Studie Aufschluss über weitere Einflussfaktoren wie individuellen Genotyp und 25-Hydroxyvitamin D (25(OH)D)-Spiegel geben. Bei der LURIC-Studie handelt es sich um eine fortlaufende prospektive Kohortenstudie mit Startpunkt im Jahre 1997. Eine Aufnahme von Probanden in die Studie verlangte bestimmte Voraussetzungen: um differenziertere Ergebnisse durch größtmögliche genetische Homogenität zu erhalten, fanden die Untersuchungen ausschließlich an Individuen kaukasischer Herkunft statt. Ferner durften neben koronarer Herzkrankheit keine weiteren schwerwiegenden Erkrankungen vorliegen. Insgesamt 3.316 Patienten, bei denen im Verlauf die Durchführung einer Koronarangiografie eingeplant war, wurden in die Studie eingeschlossen. Allerdings wurden sie zu Beginn einer umfangreichen biochemischen Untersuchung sowie individueller Genotypisierung unterzogen. Auch klinische Parameter wie Alter, Geschlecht, *body mass index* (BMI), Nikotinabusus, Blutdruck sowie Blutzuckerwerte und einige weitere Parameter wurden erhoben. Die Untersuchungen erfolgten an 115 ml venösem Blut des nüchternen Patienten. Zur quantitativen Erfassung des für diese Arbeit relevanten Parameters 25(OH)D diente ein Radioimmunassay (DiaSorin SA, Antony, Frankreich). Anhand des Affymetrix Human SNP Array 6.0 (Affymetrix, Santa Clara, Kalifornien, Vereinigte Staaten) wurde die DNA des Studienkollektivs genotypisiert [142]. Die statistische Ausarbeitung in die-

ser Arbeit basiert auf den Daten, die im Rahmen der LURIC-Studie erhoben wurden.

3.2 Verwendete Daten der LURIC-Datenbank

Die Auswahl der im Folgenden aufgelisteten Gene beruht auf deren möglicher Assoziation zur Hautpigmentierung. Im Zentrum dieser Arbeit stehen die Gene der p53-Familie: p53, p63 und p73. Es wurden basierend auf den Daten der LURIC-Studie 91 *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) von 3.040 Patienten untersucht. Die im Vergleich zur Gesamtprobandenzahl der Studie geringere Patientenzahl, 3.040 anstelle von 3.316 Patienten ist darin begründet, dass die Auswertung nur erfolgen konnte, wenn sowohl Genotypsequenz als auch der 25-(OH)D-Wert vorhanden waren. Die Codierung der einzelnen SNPs erfolgt durch die rs-Nummer, wie es rs12951053 beispielhaft darstellt. Der jedem einzelnen SNP zugehörige Genotyp wird durch die Anfangsbuchstaben der Nukleoside ersichtlich: A = **A**denin, T = **T**hymine, G = **G**uanin, C = **C**ytosin. Eine Zuordnung des Patienten mit der Identitätsnummer 2 (ID-LURIC) trägt beispielsweise für den SNP rs12951053 die Genotypausprägung CG. Es liegen in diesem Fall zwei verschiedene Nukleoside, nämlich Cytosin und Guanin, auf den beiden Allelen vor.

Tabelle 3 zeigt einen Überblick der für diese Arbeit relevanten SNPs und ermöglicht die Zuordnung zum entsprechenden Gen, dem dazugehörigen Genprodukt und der Chromosomenlokalisierung.

reference SNP	Gen	Genprodukt	Chromosom
12602273	Tp53	p53	17
9895829	Tp53	p53	17
12951053	Tp53	p53	17
2078486	Tp53	p53	17
4687087	Tp63	p63	3
12630584	Tp63	p63	3
16864784	Tp63	p63	3
9681004	Tp63	p63	3
6780467	Tp63	p63	3
4686528	Tp63	p63	3
16864725	Tp63	p63	3
6664760	Tp73	p73	1
6695978	Tp73	p73	1

Tabelle 3: Überblick relevanter SNPs mit Zuordnung zum entsprechenden Gen, Genprodukt sowie Chromosomenlokalisierung [95].

Tabelle 4 enthält eine Liste aller analysierten SNPs.

SNP	25(OH)D-Serumkonzentration (Median)	Δ 25(OH)D (XX-Total)	p-Wert (H-Test)
Genprodukt: p73 (8 SNPs)			
rs732901	CC (n = 2.529): 15,7 ng/ml	0,2 ng/ml	0,430
	TC (n = 461): 15 ng/ml	-0,5 ng/ml	
	TT (n = 21): 14,3 ng/ml	-1,2 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs3765696	CC (n = 22): 14,6 ng/ml	-0,9 ng/ml	0,915
	CT (n = 497): 15,2 ng/ml	-0,3 ng/ml	
	TT (n = 2.511): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs12027041	CC (n = 514): 15,15 ng/ml	-0,35 ng/ml	0,845
	CG (n = 1.508): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml	
	GG (n = 987): 15,7 ng/ml	0,2 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs3765730	AA (n = 433): 15,1 ng/ml	-0,4 ng/ml	0,924
	AG (n = 1.453): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml	
	GG (n = 1.153): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	

rs17379833	AA (n = 1.143): 15,7 ng/ml	0,2 ng/ml	0,587
	TA (n = 1.446): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	TT (n = 445): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs6424090	AA (n = 4): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	0,747
	AG (n = 209): 15,1 ng/ml	-0,4 ng/ml	
	GG (n = 2.815): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs6664760	CC (n = 8): 12,2 ng/ml	-3,3 ng/ml	0,454
	CT (n = 245): 15,9 ng/ml	0,4 ng/ml	
	TT (n = 2.784): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs6695978	AA (n = 8): 12,2 ng/ml	-3,3 ng/ml	0,569
	AG (n = 244): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml	
	GG (n = 2.773): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
Genprodukt: p63 (78 SNPs)			
rs4488809	CC (n = 736): 15,45 ng/ml	-0,05 ng/ml	0,281
	CT (n = 1.553): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	TT (n = 750): 15,9 ng/ml	0,4 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs7636839	AA (n = 748): 15,9 ng/ml	0,4 ng/ml	0,250
	GA (n = 1.555): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	GG (n = 735): 15,4 ng/ml	-0,1 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs1920266	AA (n = 600): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	0,781
	AC (n = 1.538): 15,4 ng/ml	-0,1 ng/ml	
	CC (n = 901): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs1920252	GG (n = 857): 15,7 ng/ml	0,2 ng/ml	0,687
	TG (n = 1.538): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	TT (n = 643): 15,9 ng/ml	0,4 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs9862450	CC (n = 213): 16 ng/ml	0,5 ng/ml	0,877
	CT (n = 1.270): 15,35 ng/ml	-0,15 ng/ml	
	TT (n = 1.547): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs9847400	GG (n = 1.016): 15,45 ng/ml	-0,05 ng/ml	0,610
	TG (n = 1.521): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml	
	TT (n = 502): 15,7 ng/ml	0,2 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	

rs4491879	CC (n = 640): 15,95 ng/ml	0,45 ng/ml	0,602
	CT (n = 1.541): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	TT (n = 853): 15,7 ng/ml	0,2 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs4505678	AA (n = 858): 15,7 ng/ml	0,2 ng/ml	0,721
	TA (n = 1.533): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	TT (n = 628): 15,9 ng/ml	0,04 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs10937405	CC (n = 890): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml	0,676
	TC (n = 1.566): 15,25 ng/ml	-0,25 ng/ml	
	TT (n = 538): 16,1 ng/ml	0,6 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs4600802	CC (n = 29): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml	0,510
	CT (n = 467): 15,9 ng/ml	0,4 ng/ml	
	TT (n = 2.541): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs6776687	AG (n = 107): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml	0,491
	GG (n = 2.928): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	NA (n = NA): NA	NA	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs4118375	CC (n = 81): 13,3 ng/ml	-2,2 ng/ml	0,770
	CG (n = 839): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	GG (n = 2.119): 15,7 ng/ml	0,2 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs17505102	CC (n = 45): 17,8 ng/ml	2,3 ng/ml	0,589
	CG (n = 657): 15,4 ng/ml	-0,1 ng/ml	
	GG (n = 2.305): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs16848860	CC (n = 89): 17,3 ng/ml	1,8 ng/ml	0,735
	CT (n = 943): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml	
	TT (n = 2.002): 15,35 ng/ml	-0,15 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs16864723	AA (n = 226): 16,9 ng/ml	1,4 ng/ml	0,188
	AG (n = 1.289): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	GG (n = 1.524): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs16864725	AA (n = 44): 18,3 ng/ml	2,8 ng/ml	0,355
	AG (n = 646): 15,4 ng/ml	-0,1 ng/ml	
	GG (n = 2.349): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	

rs2889918	CC (n = 1.273): 16 ng/ml	0,5 ng/ml	0,212
	TC (n = 1.422): 15,1 ng/ml	-0,4 ng/ml	
	TT (n = 342): 15,55 ng/ml	0,05 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs7618742	CC (n = 2.121): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	0,272
	TC (n = 837): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	TT (n = 81): 16,9 ng/ml	1,4 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs9840152	CC (n = 97): 16,9 ng/ml	1,4 ng/ml	0,313
	CG (n = 891): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	GG (n = 2.049): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs6763902	AA (n = 2.441): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml	0,618
	GA (n = 568): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	GG (n = 29): 14,6 ng/ml	-0,9 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs4687087	CC (n = 1.246): 16,2 ng/ml	0,7 ng/ml	0,040
	TC (n = 1.436): 14,8 ng/ml	-0,7 ng/ml	
	TT (n = 352): 15,8 ng/ml	0,3 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs13095039	AA (n = 1.571): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	0,642
	CA (n = 1.234): 16 ng/ml	0,5 ng/ml	
	CC (n = 230): 15,4 ng/ml	-0,1 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs10937406	AA (n = 985): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	0,394
	GA (n = 1.501): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	GG (n = 541): 16 ng/ml	0,5 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs4687090	AA (n = 571): 16,2 ng/ml	0,7 ng/ml	0,225
	AG (n = 1.504): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	GG (n = 963): 15,4 ng/ml	-0,1 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs10937408	AA (n = 967): 15,4 ng/ml	-0,1 ng/ml	0,246
	TA (n = 1.508): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	TT (n = 564): 16,25 ng/ml	0,75 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs11711203	CC (n = 1.382): 15,9 ng/ml	0,4 ng/ml	0,175
	TC (n = 1.315): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	TT (n = 325): 15,1 ng/ml	-0,4 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	

rs6777607	AA (n = 1.034): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	0,645
	GA (n = 1.486): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	GG (n = 517): 15,9 ng/ml	0,4 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs4429607	CC (n = 1.548): 15,7 ng/ml	0,2 ng/ml	0,634
	TC (n = 1.260): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	TT (n = 227): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs9876702	AA (n = 6): 15 ng/ml	-0,5 ng/ml	0,396
	AG (n = 264): 14,65 ng/ml	-0,85 ng/ml	
	GG (n = 2.770): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs4686525	CC (n = 517): 16,2 ng/ml	0,7 ng/ml	0,603
	CG (n = 1.484): 15,2 ng/ml	-0,3 ng/ml	
	GG (n = 1.037): 15,7 ng/ml	0,2 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs6765015	AA (n = 479): 15,9 ng/ml	0,4 ng/ml	0,580
	AT (n = 1.482): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	TT (n = 1.078): 15,55 ng/ml	0,05 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs6444395	CC (n = 1.036): 15,7 ng/ml	0,2 ng/ml	0,669
	TC (n = 1.485): 15,2 ng/ml	-0,3 ng/ml	
	TT (n = 518): 16,2 ng/ml	0,7 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs9866467	AA (n = 6): 15 ng/ml	-0,5 ng/ml	0,404
	AT (n = 269): 14,6 ng/ml	-0,9 ng/ml	
	TT (n = 2.764): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs4075773	AA (n = 241): 15,2 ng/ml	-0,3 ng/ml	0,125
	AT (n = 1.188): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	TT (n = 1.558): 15,9 ng/ml	0,4 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs6780467	AA (n = 2): 28,1 ng/ml	12,6 ng/ml	0,192
	AT (n = 189): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	TT (n = 2.799): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs4686528	AA (n = 2.813): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	0,911
	GA (n = 217): 15,2 ng/ml	-0,3 ng/ml	
	GG (n = 8): 18,4 ng/ml	2,9 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	

rs4686529	AA (n = 960): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	0,948
	GA (n = 1.441): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	GG (n = 627): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs12630584	AA (n = 29): 14,3 ng/ml	-1,2 ng/ml	0,044
	AG (n = 606): 16,35 ng/ml	0,85 ng/ml	
	GG (n = 2.400): 15,4 ng/ml	-0,1 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs17505775	AA (n = 209): 15,9 ng/ml	0,4 ng/ml	0,681
	AG (n = 1.096): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml	
	GG (n = 1.727): 15,4 ng/ml	-0,1 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs16864784	AA (n = 2.372): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	0,024
	GA (n = 605): 16,6 ng/ml	1,1 ng/ml	
	GG (n = 35): 14,5 ng/ml	-1,0 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs12488121	AA (n = 32): 14,9 ng/ml	-0,6 ng/ml	0,062
	AG (n = 609): 16,4 ng/ml	0,9 ng/ml	
	GG (n = 2.395): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs7650285	AA (n = 31): 14,5 ng/ml	-1,0 ng/ml	0,053
	AG (n = 606): 16,35 ng/ml	0,85 ng/ml	
	GG (n = 2.397): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs7615537	AA (n = 32): 14,9 ng/ml	-0,6 ng/ml	0,086
	AG (n = 606): 16,35 ng/ml	0,85 ng/ml	
	GG (n = 2.385): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs13321831	AA (n = 11): 15 ng/ml	-0,5 ng/ml	0,820
	AG (n = 441): 15,8 ng/ml	0,3 ng/ml	
	GG (n = 2.536): 15,45 ng/ml	-0,05 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs1554130	CC (n = 2.387): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	0,051
	TC (n = 612): 16,4 ng/ml	0,9 ng/ml	
	TT (n = 31): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs873595	CC (n = 17): 14,7 ng/ml	-0,8 ng/ml	0,781
	CT (n = 479): 15,2 ng/ml	-0,3 ng/ml	
	TT (n = 2.543): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	

rs7619549	AA (n = 714): 15,9 ng/ml	0,4 ng/ml	0,656
	AG (n = 1.490): 15,2 ng/ml	-0,3 ng/ml	
	GG (n = 812): 15,9 ng/ml	0,4 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs13063446	AA (n = 10): 14,75 ng/ml	-0,75 ng/ml	0,909
	AG (n = 313): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	GG (n = 2.716): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs4687094	AA (n = 1.172): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	0,545
	CA (n = 1.406): 15,75 ng/ml	0,25 ng/ml	
	CC (n = 461): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs13091309	CC (n = 53): 14,1 ng/ml	-1,4 ng/ml	0,686
	CT (n = 637): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	TT (n = 2.345): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs9817608	AA (n = 915): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	0,146
	GA (n = 1.500): 16 ng/ml	0,5 ng/ml	
	GG (n = 622): 15,1 ng/ml	-0,4 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs6795465	CC (n = 50): 14,65 ng/ml	-0,85 ng/ml	0,978
	CT (n = 629): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml	
	TT (n = 2.356): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs9879356	CC (n = 397): 15,4 ng/ml	-0,1 ng/ml	0,474
	CT (n = 1.412): 15,95 ng/ml	0,45 ng/ml	
	TT (n = 1.229): 15,2 ng/ml	-0,3 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs17447439	AA (n = 2.713): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml	0,792
	GA (n = 294): 15 ng/ml	-0,5 ng/ml	
	GG (n = 8): 14,7 ng/ml	-0,8 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs13064847	CC (n = 2.664): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	0,887
	GC (n = 366): 15,55 ng/ml	0,05 ng/ml	
	GG (n = 8): 16,35 ng/ml	0,85 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs7619370	AA (n = 969): 15,1 ng/ml	-0,4 ng/ml	0,054
	GA (n = 1.496): 16,4 ng/ml	0,9 ng/ml	
	GG (n = 557): 14,8 ng/ml	-0,7 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	

rs7619556	AA (n = 966): 15,1 ng/ml	-0,4 ng/ml	0,059
	GA (n = 1.494): 16,4 ng/ml	0,9 ng/ml	
	GG (n = 566): 15 ng/ml	-0,5 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs11710350	AA (n = 383): 15,4 ng/ml	-0,1 ng/ml	0,124
	AC (n = 1.360): 16,1 ng/ml	0,6 ng/ml	
	CC (n = 1.258): 15,1 ng/ml	-0,4 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs4687098	CC (n = 176): 15,1 ng/ml	-0,4 ng/ml	0,650
	CT (n = 1.176): 15,9 ng/ml	0,4 ng/ml	
	TT (n = 1.641): 15,4 ng/ml	-0,1 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs2138244	AA (n = 1.895): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml	0,664
	GA (n = 1.003): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	GG (n = 139): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs9817981	AA (n = 991): 16,1 ng/ml	0,6 ng/ml	0,305
	GA (n = 1.510): 15,2 ng/ml	-0,3 ng/ml	
	GG (n = 486): 16 ng/ml	0,5 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs6784696	AA (n = 21): 16,7 ng/ml	1,2 ng/ml	0,999
	AT (n = 507): 15,8 ng/ml	0,3 ng/ml	
	TT (n = 2.501): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs2176085	GG (n = 544): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	0,689
	GT (n = 1.511): 15,7 ng/ml	0,2 ng/ml	
	TT (n = 970): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs11719667	AA (n = 309): 15,1 ng/ml	-0,4 ng/ml	0,229
	AG (n = 1.290): 15,4 ng/ml	-0,1 ng/ml	
	GG (n = 1.430): 15,9 ng/ml	0,4 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs2378526	CC (n = 564): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	0,896
	CG (n = 1.504): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	GG (n = 965): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs6444403	CC (n = 2.495): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	0,492
	TC (n = 502): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml	
	TT (n = 28): 17,95 ng/ml	2,45 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	

rs7653848	CC (n = 2.187): 15,4 ng/ml	-0,1 ng/ml	0,515
	TC (n = 756): 15,9 ng/ml	0,4 ng/ml	
	TT (n = 89): 16,1 ng/ml	0,6 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs1399773	GG (n = 470): 16,45 ng/ml	0,95 ng/ml	0,161
	GT (n = 1.466): 15,4 ng/ml	-0,1 ng/ml	
	TT (n = 1.098): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs1399774	AA (n = 1.743): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	0,330
	GA (n = 1.116): 15,4 ng/ml	-0,1 ng/ml	
	GG (n = 168): 17,35 ng/ml	1,85 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs16864880	CC (n = 2.119): 15,7 ng/ml	0,2 ng/ml	0,532
	GC (n = 833): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	GG (n = 85): 15,7 ng/ml	0,2 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs7624324	CC (n = 1.472): 15,35 ng/ml	-0,15 ng/ml	0,458
	TC (n = 1.289): 15,9 ng/ml	0,4 ng/ml	
	TT (n = 279): 15 ng/ml	-0,5 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs6789961	AA (n = 1.923): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	0,863
	GA (n = 954): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	GG (n = 154): 16,45 ng/ml	0,95 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs6790167	AA (n = 723): 15,4 ng/ml	-0,1 ng/ml	0,726
	AG (n = 1.508): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	GG (n = 763): 16,2 ng/ml	0,7 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs1554132	CC (n = 747): 16,6 ng/ml	1,1 ng/ml	0,059
	CG (n = 1.526): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	GG (n = 762): 15,15 ng/ml	-0,35 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs1345186	CC (n = 1.897): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml	0,838
	TC (n = 1.001): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	TT (n = 139): 14,8 ng/ml	-0,7 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs4687100	AA (n = 1.608): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	0,241
	GA (n = 1.212): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	GG (n = 219): 16,5 ng/ml	1,0 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	

rs9681004	CC (n = 442): 16,7 ng/ml	1,2 ng/ml	0,035
	CT (n = 1.469): 15,7 ng/ml	0,2 ng/ml	
	TT (n = 1.125): 15,1 ng/ml	-0,4 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs11708753	AA (n = 1.954): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	0,287
	TA (n = 981): 16 ng/ml	0,5 ng/ml	
	TT (n = 103): 17,7 ng/ml	2,2 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
Genprodukt: p53 (5 SNPs)			
rs12951053	AA (n = 2.600): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	0,264
	CA (n = 407): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	CC (n = 22): 20,3 ng/ml	4,8 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs2909430	CC (n = 59): 17,4 ng/ml	1,9 ng/ml	0,268
	CT (n = 631): 15,4 ng/ml	-0,1 ng/ml	
	TT (n = 2.299): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs9895829	AA (n = 2.723): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml	0,168
	GA (n = 308): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml	
	GG (n = 7): 10,4 ng/ml	-5,1 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs12602273	CC (n = 2.620): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	0,081
	GC (n = 399): 15,1 ng/ml	-0,4 ng/ml	
	GG (n = 20): 22,0 ng/ml	6,5 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	
rs2078486	AA (n = 25): 19,7 ng/ml	4,2 ng/ml	0,153
	AG (n = 397): 15,1 ng/ml	-0,4 ng/ml	
	GG (n = 2.616): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml	
	Total (n = 3.040): 15,5 ng/ml	-	

Tabelle 4: Überblick über den Zusammenhang zwischen SNPs (insgesamt n = 91) mit möglichem Bezug zur Hautpigmentierung und dem 25(OH)D-Serumspiegel. Abkürzungen: H-Test = Kruskal-Wallis-Test; Fettdruck = SNP signifikant < 0,05; NA = Gruppe nicht besetzt.

3.3 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Statistiksoftware R [133]. Bei allen Analysen wurde das Signifikanzniveau bei 5 % festgelegt, d. h. ein p-Wert $< 0,05$ wurde in allen Analysen als statistisch signifikant angesehen.

3.3.1 Kolmogorow-Smirnow-Test

Die Datenreihen wurden auf das Vorliegen einer annähernden Normalverteilung untersucht. Anhand des Kolmogorow-Smirnow-Tests wurde ermittelt, ob für die 25(OH)D-Serumkonzentration eine Gaußverteilung vorliegt. Die Nullhypothese besagt, dass beim 25(OH)D-Serumspiegel von einer Normalverteilung auszugehen ist. Lag keine Normalverteilung vor, so erfolgte die weitere Auswertung über nicht-parametrische Testverfahren.

3.3.2 Nicht-parametrische Testverfahren

Da die 25(OH)D-Serumspiegel des untersuchten Patientenkollektivs keine Normalverteilung aufwiesen, wurden für weitere Analysen sowohl ein Kruskal-Wallis-Test als auch ein Mann-Whitney-U-Test verwendet. Jeder der 91 SNPs wurde anhand des Kruskal-Wallis-Tests und gegebenenfalls anhand des Mann-Whitney-U-Tests untersucht, wobei die Nullhypothese aussagt, dass unter den drei möglichen Genotypkombinationen eines SNPs, von denen zwei homogen (GG, CC) und einer heterogen (GC) ist, kein signifikanter Unterschied im 25(OH)D-Spiegel vorliegt. Es sollte also das Vorhandensein eines statistisch signifikanten Unterschieds im 25(OH)D-Serumspiegel geprüft werden. Dabei war die zentrale Frage, ob die untersuchten SNPs der p53-Familie mit dem 25(OH)D-Serumspiegel assoziiert sind. Zunächst wurde für jeden der 91 SNPs ein Kruskal-Wallis-Test durchgeführt. Ein statistisch signifikantes Ergebnis im Kruskal-Wallis-Test sagte aus, dass Unterschiede im 25(OH)D-Serumspiegel zwischen den drei möglichen Genotypkombinationen eines SNPs bestanden. Allerdings war noch nicht bekannt, zwischen welchen genauen Genotypkombinationen diese Unterschiede

vorlagen. Um dies zu ermitteln, wurde anschließend für die im Kruskal-Wallis-Test statistisch signifikanten SNPs ein Mann-Whitney-U-Test angewandt. Mit diesem Testverfahren ist ein paarweiser Vergleich der zu jedem SNP gehörenden drei Genotypkombinationen möglich. Die genaue Rückführung einer statistisch signifikant höheren beziehungsweise niedrigeren 25(OH)D-Serumkonzentration auf die entsprechende Genotypsequenz war somit möglich.

3.3.3 Chi-Quadrat-Test (χ^2)

Anhand des Chi-Quadrat-Tests wurden die in der Primäranalyse signifikanten SNPs ($n = 4$) weiter untersucht. Es fand eine Aufteilung des Gesamtkollektivs in drei Gruppen (Tertile) statt, wobei jeweils verschiedene 25(OH)D-Serumbereiche betrachtet wurden. Die Anzahl der Patienten sollte in jeder der drei Gruppen etwa gleich groß sein. Für Gruppe 1 wurde ein 25(OH)D-Serumbereich $\leq 11,80$ ng/ml bei 1.001 Patienten (Minimalwert: 1,90; Maximalwert: 11,80; Median: 8,30) festgelegt. Gruppe 2 mit einer 25(OH)D-Serumkonzentration zwischen $> 11,80$ ng/ml und $\leq 20,30$ ng/ml bestand aus 1.005 Patienten (Minimalwert: 11,90; Maximalwert: 20,30; Median: 15,60). Höhere 25(OH)D-Serumkonzentrationen von $> 20,30$ ng/ml bei 995 Patienten (Minimalwert: 20,40; Maximalwert: 170,10; Median: 26,30) wurden Gruppe 3 zugeteilt. Mithilfe des Chi-Quadrat-Tests konnte auf eine mögliche Überrepräsentation einer der drei möglichen Genotypkombinationen eines SNPs innerhalb der drei verschiedenen 25(OH)D-Serumkonzentrationsbereiche geschlossen werden.

3.3.4 Korrekturverfahren

Mit den in der Primäranalyse statistisch signifikanten SNPs ($n = 4$) wurde ein Korrekturverfahren durchgeführt. Ziel der hier angewandten Benjamini-und-Hochberg-Korrektur zur Kontrolle der *false discovery rate* (FDR) war, das multiple Testen zu berücksichtigen und dadurch das Auftreten des Fehlers erster Art (α -Fehler) zu reduzieren.

3.3.5 Lineare Regression

Mittels multipler linearer Regression wurden die Genotypkombinationen eines SNPs hinsichtlich des 25(OH)D-Serumspiegels unter Berücksichtigung von Störfaktoren verglichen. Da die 25(OH)D-Konzentration im menschlichen Organismus von weiteren Faktoren beeinflussbar ist, wurde eine Adjustierung für folgende Variablen vorgenommen: Geschlecht, BMI, Geburtsjahr und Monat der Blutentnahme (Saisonale Unterschiede). Bei dieser multiplen linearen Regression stellte der 25(OH)D-Status (Logarithmus) die abhängige Variable dar, während die nach der Primäranalyse signifikanten SNPs ($n = 4$) sowie die Störfaktoren Geschlecht, BMI, Geburtsjahr und Monat der Blutentnahme als unabhängige Variablen modelliert wurden.

3.3.6 Überlebenszeitanalyse

Anhand des Kaplan-Meier-Verfahrens und mithilfe der Cox-Regression wurden die Daten zur Überlebenszeit analysiert. Dabei diente die Cox-Regression als Assoziationsmaß (*hazard ratio*), um das Überlebensrisiko zu quantifizieren. Man ermittelte konkret, ob die einzelnen SNPs das Überleben der Patienten aus der LURIC-Studie beeinflussen. Die Frage nach einem statistisch signifikanten Unterschied in der Überlebenszeit der zu den drei verschiedenen Genotypvarianten eines SNPs (z.B. GG, GC, CC) gehörenden Patientengruppen sollte geklärt werden.

3.3.7 Einfluss der Jahreszeiten auf den 25(OH)D-Serumspiegel

Über einen bestimmten Zeitraum (Juli 1997 – Januar 2000) hinweg wurde untersucht, ob sich der 25(OH)D-Serumspiegel in Abhängigkeit von der Jahreszeit verändert. In Form des Median als Punktschätzer (roter Punkt) und dessen *Bias corrected and accelerated bootstrap* 95 %-Konfidenzintervall (95 %-KI) konnten die saisonalen Schwankungen des Vitamin-D-Spiegels veranschaulicht werden (siehe Abbildung 9 auf Seite 64).

3.3.8 Abhängigkeit des 25(OH)D-Serumspiegels vom Geschlecht

In der Gegenüberstellung des 25(OH)D-Status des männlichen und weiblichen Geschlechts wurden die Vitamin-D-Konzentrationen beider Gruppen verglichen. In Abbildung 10 auf Seite 65 ist getrennt für beide Geschlechter je das 95 %-KI mit dem dazugehörigen Median (roter Punkt) dargestellt. Das Gesamtkollektiv besteht dabei anteilig aus 70 % (n = 2.129) weiblichen und 30 % (n = 911) männlichen Probanden.

3.4 Schematische Vorgehensweise

Die Fragestellung der vorliegenden Arbeit bestand darin, mögliche Assoziationen zwischen SNPs in Genen der p53-Familie und dem 25(OH)D-Serumspiegel beim LURIC-Kollektiv (n=3.040) zu finden. Die Vorgehensweise untergliederte sich in die im folgenden erläuterten drei Abschnitte.

1. 91 SNPs aus Genen der zur p53-Familie gehörenden Proteine p53, p63 und p73

Im Folgenden werden 91 SNPs bei einem Kollektiv bestehend aus 3.040 Patienten untersucht

1. Test auf Normalverteilung der 25(OH)D-Serumkonzentration (Kolmogorow-Smirnow-Test)
→ keine Gaußverteilung

2. Nicht-parametrische Testverfahren zur Primäranalyse
Unterschiede zwischen den Genotypvarianten eines SNPs hinsichtlich des 25(OH)D-Serumspiegels wurden zunächst mit dem Kruskal-Wallis-Test und gegebenenfalls mit dem Mann-Whitney-U-Test (post-hoc) überprüft.
 - a) Kruskal-Wallis-Test: Vergleich der Genotypkombinationen eines SNPs

hinsichtlich der 25(OH)D-Serumkonzentration
 → 4 SNPs mit $p < 0,05$

- b) Im Folgenden werden die laut Kruskal-Wallis-Test statistisch signifikanten ($p < 0,05$) SNPs genauer untersucht ($n=4$)
 Mann-Whitney-U-Test: Paarweiser Vergleich der drei möglichen Genotypkombinationen pro SNP (welche Genotypsequenzen unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$) im 25(OH)D-Serumspiegel) unter Berücksichtigung des multiplen Testproblems mit Hilfe der FDR, adjustiert nach Benjamini-Hochberg

SNP	Genotyp	adjustierter p-Wert
rs4687087	CC vs. TC	0.044
rs16864784	AA vs. GA	0.044
rs9681004	CC vs. TT	0.044

→ Mann-Whitney-U-Test(adjustiert): 3 SNPs mit $p < 0,05$

2. 4 SNPs mit $p < 0,05$ nach Primäranalyse

Im Folgenden werden 4 SNPs bei einem Kollektiv bestehend aus 3.040 Patienten untersucht

1. Chi-Quadrat-Test (χ^2)

Einteilung der 25(OH)D-Serumkonzentration in Tertile (Gruppe 1: $\leq 11,80$ ng/ml bei 1.001 Patienten, Gruppe 2: $> 11,80$ ng/ml bis $\leq 20,30$ ng/ml bei 1.005 Patienten, Gruppe 3: $> 20,30$ ng/ml bei 995 Patienten) und Testung auf Überrepräsentation der Genotypvarianten eines SNPs. Berücksichtigung des multiplen Testproblems mit Hilfe der FDR nach Benjamini-Hochberg.

→ kein Unterschied in den einzelnen Gruppen

2. Lineare Regression

Anteil der Varianz der 25(OH)D-Werte, der durch SNPs erklärt wird (Adjustierung von Geschlecht, BMI, Geburtsjahr, Monat der Blutentnahme)

→ R^2 (Determinationskoeffizient): 9,0–9,2 %

3. Überlebenszeitanalyse (Kaplan-Meier-Verfahren, Cox-Regression)
Einfluss von SNPs auf das Überleben der Patienten
→ keine Signifikanz hinsichtlich des Überlebensrisikos

3. Weitere Tests

Im Folgenden wird der Einfluss der Jahreszeiten und des Geschlechts auf den 25(OH)D-Serumspiegel bei einem Kollektiv bestehend aus 3.040 Patienten untersucht

1. Einfluss der Jahreszeiten auf den 25(OH)D-Serumspiegel
25(OH)D-Serumspiegel (Median mit 95 % BCa-Konfidenzintervall)
→ ab Oktober: Abnahme der 25(OH)D- Serumkonzentration
→ ab April/Mai: Anstieg der 25(OH)D- Serumkonzentration
2. Abhängigkeit des 25(OH)D-Serumspiegels vom Geschlecht
25(OH)D-Serumspiegel (Median mit 95 % BCa-Konfidenzintervall)
→ männliches Geschlecht signifikant ($p < 0,001$) geringere 25(OH)D-Serumspiegel als weibliches Geschlecht

4 Ergebnisse

Folgende Hypothese wurde aufgestellt: es besteht eine Assoziation von Polymorphismen in Genen der p53-Familie mit möglichem Bezug zur Hautpigmentierung und dem 25-Hydroxyvitamin D (25(OH)D)-Status.

Die in der *Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study* (LURIC)-Studie erhobenen Daten aus einem Gesamtkollektiv von 3.316 Patienten lieferten die Grundlage der vorliegenden Auswertungen. In dieser Arbeit werden 91 *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) in drei verschiedenen Genen untersucht. Bei der in die Analysen eingehenden Patientenzahl von 3.040 betrug der Median 15,5 ng/ml, während sich für den 25(OH)D-Serumspiegel ein Mittelwert von 17,3 ng/ml ergab.

Um einen Vitamin-D-Mangel abzuschätzen, wurden die 25(OH)D-Konzentrationen in Anlehnung an die Empfehlungen von Hintzpeter [44] in die in Tabelle 1 gelisteten Kategorien eingeteilt.

4.1 Kolmogorow-Smirnow-Test

Die Nullhypothese „eine Gaußverteilung der 25(OH)D-Konzentrationen liegt vor“ musste abgelehnt werden, da sich für die 25(OH)D-Spiegel keine Normalverteilung ergab (siehe Abbildung 4). Der p-Wert für die 25(OH)D-Serumkonzentration lag bei $p < 0,001$.

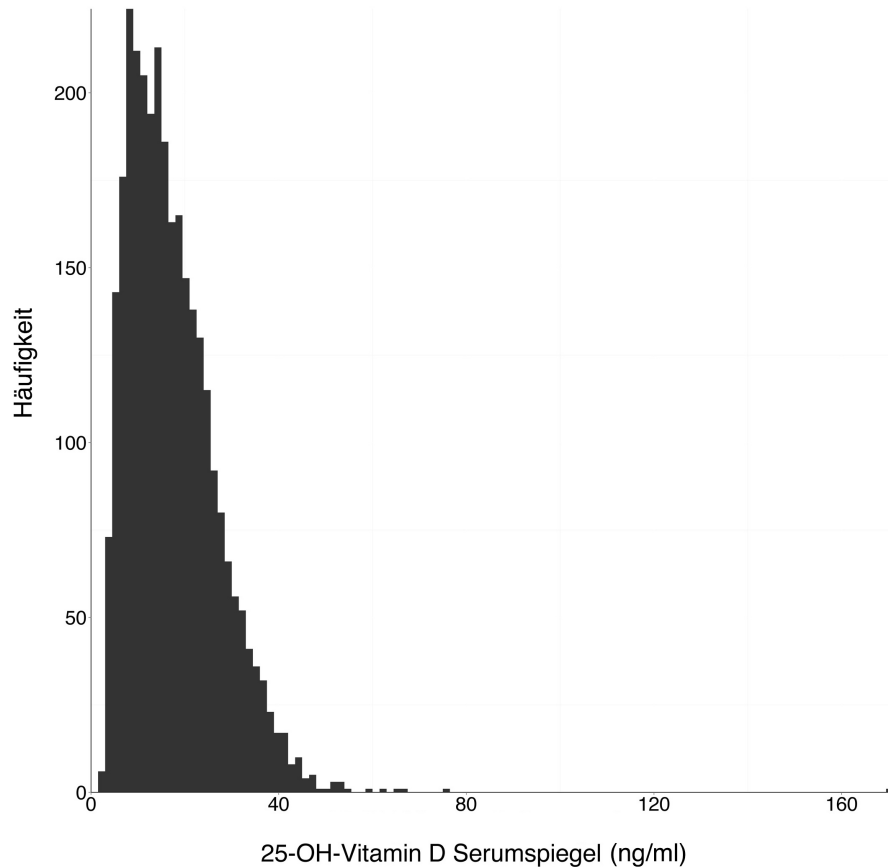


Abbildung 4: Häufigkeitsverteilung der 25(OH)D-Serumspiegel

4.2 Nicht-parametrische Testverfahren

Die Vergleiche der Genotypkombinationen eines SNPs mithilfe des Kruskal-Wallis-Tests wiesen bei vier SNPs auf statistisch signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede hinsichtlich der 25(OH)D-Konzentrationen hin (siehe Tabelle 5). Diese SNPs befinden sich alle auf einem der drei Gene, die im Rahmen dieser Arbeit ausgewertet wurden, dem Gen, das p63 codiert. Welche genauen Genotypsequenzen sich im 25(OH)D-Serumspiegel statistisch signifikant unterscheiden, wurde anhand des Mann-Whitney-U-Tests ermittelt. Im paarweisen Vergleich der jeweils drei möglichen Genotypkombinationen pro SNP konnten drei SNPs auch nach Adjustierung ihre statistische Signifikanz ($p < 0,05$) erhalten (siehe Tabelle 6). In die Gruppe mit deutlich erhöhten beziehungsweise

erniedrigten 25(OH)D-Serumspiegeln im Vergleich zum Gesamtkollektiv fallen die aus Tabelle 7 ersichtlichen 9 SNPs. Obgleich sie das Signifikanzniveau nicht erreicht haben, waren sie mit relativ hohen $\Delta 25(\text{OH})\text{D}$ -Werten ($> 2,8 \text{ ng/ml}$) assoziiert.

SNP	25(OH)D-Serumkonzentration (Median)	$\Delta 25(\text{OH})\text{D}$ (XX-Total)	p-Wert (H-Test)	Adjustierter* p-Wert (χ^2 -Test)
rs4687087	TT (n=352): 15,8 ng/ml	0,3 ng/ml	0,040	0,137
	TC (n=1.436): 14,8 ng/ml	-0,7 ng/ml		
	CC (n=1.246): 16,2 ng/ml	0,7 ng/ml		
	Total (n=3.040): 15,5 ng/ml	-		
rs12630584	GG (n=2.400): 15,4 ng/ml	-0,1 ng/ml	0,044	0,207
	AG (n=606): 16,35 ng/ml	0,85 ng/ml		
	AA (n=29): 14,3 ng/ml	-1,2 ng/ml		
	Total (n=3.040): 15,5 ng/ml	-		
rs16864784	GG (n=35): 14,5 ng/ml	-1,0 ng/ml	0,024	0,138
	GA (n=605): 16,6 ng/ml	1,1 ng/ml		
	AA (n=2.372): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml		
	Total (n=3.040): 15,5 ng/ml	-		
rs9681004	TT (n=1.125): 15,1 ng/ml	-0,4 ng/ml	0,035	0,207
	CT (n=1.469): 15,7 ng/ml	0,2 ng/ml		
	CC (n=442): 16,7 ng/ml	1,2 ng/ml		
	Total (n=3.040): 15,5 ng/ml	-		

Tabelle 5: Zusammenhang zwischen SNPs mit möglichem Bezug zur Hautpigmentierung und dem 25(OH)D-Serumspiegel. Abkürzungen: H-Test = Kruskal-Wallis-Test; *FDR = *false discovery rate* (Benjamini-und-Hochberg-Korrektur)

SNP	Genotyp	Adjustierter* p-Wert
rs4687087	CC vs. TT	0,382
	CC vs. TC	0,044
	TT vs. TC	0,534
rs12630584	AA vs. GG	0,334
	AA vs. AG	0,197
	GG vs. AG	0,094
rs16864784	AA vs. GG	0,438
	AA vs. GA	0,044
	GG vs. GA	0,223
rs9681004	CC vs. TT	0,044
	CC vs. CT	0,197
	TT vs. CT	0,269

Tabelle 6: Paarweiser Vergleich der drei möglichen Genotypkombinationen eines SNPs anhand des Mann-Whitney-U-Tests. Das Ergebnis zeigt, welche Genotypsequenzen sich im 25(OH)D-Serumspiegel statistisch signifikant unterscheiden. Abkürzungen: *FDR = *false discovery rate* (Benjamini-und-Hochberg-Korrektur)

SNP	25(OH)D-Serumkonzentration (Median)	$\Delta 25$ (OH)D (XX-Total)
rs6780467	TT (n=2.799): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml
	AT (n=189): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml
	AA (n=2): 28,1 ng/ml	12,6 ng/ml
	Total (n=3.040): 15,5 ng/ml	-
rs12602273	GG (n=20): 22,0 ng/ml	6,5 ng/ml
	GC (n=399): 15,1 ng/ml	-0,4 ng/ml
	CC (n=2.620): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml
	Total (n=3.040): 15,5 ng/ml	-
rs9895829	GG (n=7): 10,4 ng/ml	-5,1 ng/ml
	GA (n=308): 15,3 ng/ml	-0,2 ng/ml
	AA (n=2.723): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml
	Total (n=3.040): 15,5 ng/ml	-
rs12951053	CC (n=22): 20,3 ng/ml	4,8 ng/ml
	CA (n=407): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml
	AA (n=2.600): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml
	Total (n=3.040): 15,5 ng/ml	-
rs2078486	GG (n=2.616): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml
	AG (n=397): 15,1 ng/ml	-0,4 ng/ml
	AA (n=25): 19,7 ng/ml	4,2 ng/ml
	Total (n=3.040): 15,5 ng/ml	-
rs6664760	TT (n=2.784): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml
	CT (n=245): 15,9 ng/ml	0,4 ng/ml
	CC (n=8): 12,2 ng/ml	-3,3 ng/ml
	Total (n=3.040): 15,5 ng/ml	-
rs6695978	GG (n=2.773): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml
	AG (n=244): 15,6 ng/ml	0,1 ng/ml
	AA (n=8): 12,2 ng/ml	-3,3 ng/ml
	Total (n=3.040): 15,5 ng/ml	-
rs4686528	GG (n=8): 18,4 ng/ml	2,9 ng/ml
	GA (n=217): 15,2 ng/ml	-0,3 ng/ml
	AA (n=2.813): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml
	Total (n=3.040): 15,5 ng/ml	-
rs16864725	GG (n=2.349): 15,5 ng/ml	0,0 ng/ml
	AG (n=646): 15,4 ng/ml	-0,1 ng/ml
	AA (n=44): 18,3 ng/ml	2,8 ng/ml
	Total (n=3.040): 15,5 ng/ml	-

Tabelle 7: Dargestellt sind die 9 SNPs mit den höchsten beziehungsweise niedrigsten Differenzen im 25(OH)D-Serumspiegel im Vergleich zum Gesamtkollektiv.

4.3 Chi-Quadrat-Test (χ^2)

Anhand des Chi-Quadrat-Tests wurde geprüft, ob einer der drei möglichen Genotypvarianten der nach der Primäranalyse signifikanten SNPs ($n = 4$) in einer der Tertile der 25(OH)D-Serumkonzentrationen gehäuft vorkommt. Zwischen den einzelnen Gruppen konnte kein Unterschied ermittelt werden. Das Signifikanzniveau im Chi-Quadrat-Test wurde somit nicht erreicht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 aufgezeigt.

4.4 Lineare Regression

Um herauszufinden, welcher Anteil der Varianz der 25(OH)D-Serumkonzentration durch die identifizierten SNPs beziehungsweise deren Genotypkombinationen erklärt wird, wurde das Bestimmtheitsmaß R^2 ermittelt. Für die nach dem Vorauswahltest signifikanten SNPs ($n = 4$) fand eine Adjustierung bezüglich der Störfaktoren Geschlecht, *body mass index* (BMI), Geburtsjahr und Monat der Blutentnahme statt. Das R^2 für die SNPs rs4687087 und rs9681004 ergab einen Wert von 9,0 %. Für rs12630584 wurden 9,1 % und für rs16864784 9,2 % erreicht. Das Modell der linearen Regression zeigte somit einen insgesamt eher geringen Anteil, der zwischen 9,0 und 9,2 % lag.

4.5 Überlebenszeitanalyse

Die Überlebenszeitanalyse wurde lediglich für statistisch signifikante SNPs aus der Primäranalyse durchgeführt. Die Abbildungen 5 bis 8 zeigen die Kaplan-Meier-Kurven der vier statistisch signifikanten SNPs, stratifiziert für die je drei unterschiedlichen Genotypkombinationen. Es ergab sich für keinen der vier SNPs ein statistisch signifikanter Unterschied hinsichtlich des Überlebens der Patienten. Das Überlebensrisiko scheint demnach nicht durch die Gruppenzugehörigkeit zu einer der drei möglichen Genotypvarianten eines SNPs (z. B. GG, GC, CC) geprägt zu werden. In Tabelle 8 ist die mittlere Überlebenszeit zu jeder Geno-

typvariante der vier signifikanten SNPs aufgelistet. Sie liegt zwischen 9,98 und 11 Jahren.

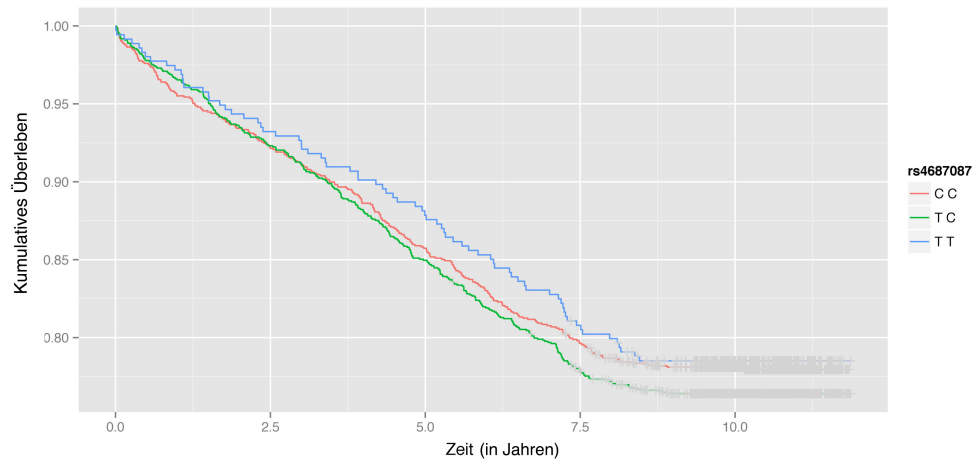


Abbildung 5: Kaplan-Meier-Kurven (Überlebensfunktionen), stratifiziert für die unterschiedlichen Genotypkombinationen in rs4687087

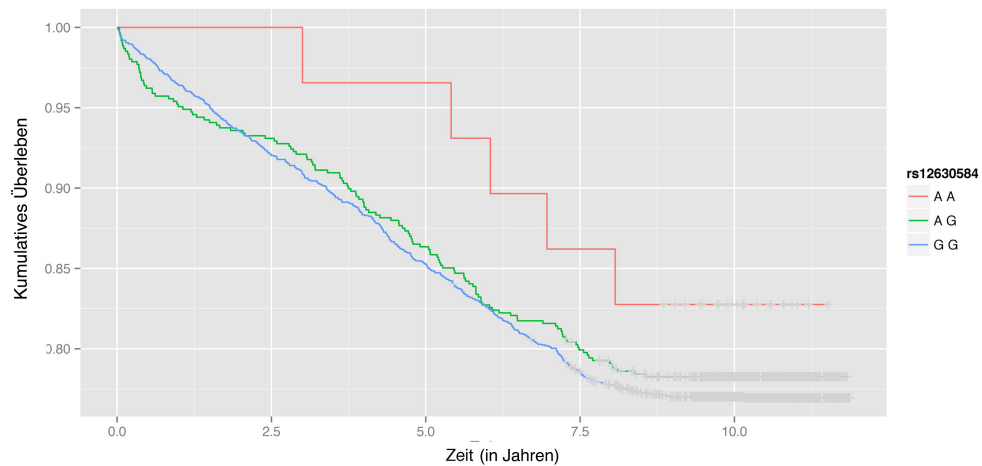


Abbildung 6: Kaplan-Meier-Kurven (Überlebensfunktionen), stratifiziert für die unterschiedlichen Genotypkombinationen in rs12630584

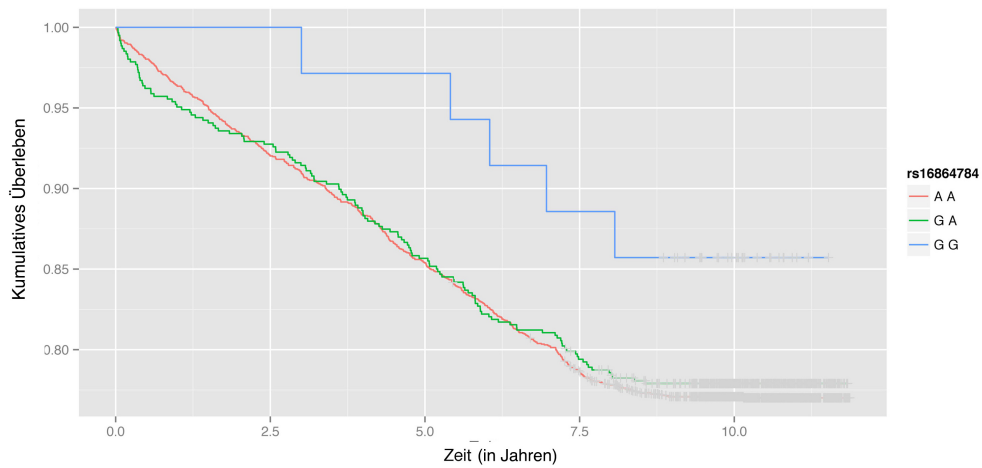


Abbildung 7: Kaplan-Meier-Kurven (Überlebensfunktionen), stratifiziert für die unterschiedlichen Genotypkombinationen in rs16864784

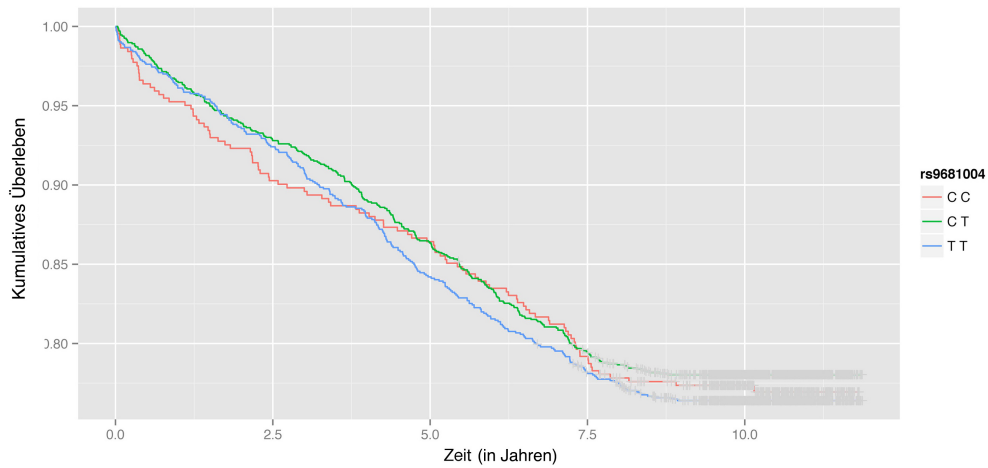


Abbildung 8: Kaplan-Meier-Kurven (Überlebensfunktionen), stratifiziert für die unterschiedlichen Genotypkombinationen in rs9681004

SNP	(mittlere) Überlebenszeit
rs4687087	CC (n=1.248): 10,09 Jahre
	TC (n=1.441): 9,99 Jahre
	TT (n=354): 10,23 Jahre
rs12630584	AA (n=29): 10,80 Jahre
	AG (n=608): 10,10 Jahre
	GG (n=2.407): 10,00 Jahre
rs16864784	AA (n=2.379): 10,00 Jahre
	GA (n=607): 10,00 Jahre
	GG (n=35): 11,00 Jahre
rs9681004	CC (n=442): 10,02 Jahre
	CT (n=1.472): 10,13 Jahre
	TT (n=1.131): 9,98 Jahre

Tabelle 8: Dargestellt ist die durchschnittliche Überlebenszeit der vier statistisch signifikanten SNPs entsprechend ihrer zugehörigen Genotypsequenz.

4.6 Einfluss der Jahreszeiten auf den 25(OH)D-Serumspiegel

Betrachtet man den 25(OH)D-Serumspiegel in Abbildung 9, sind deutliche Schwankungen in Abhängigkeit von der Jahreszeit zu erkennen. In der Darstellung ist jeweils der Median der Messwerte (roter Punkt) im jeweiligen Monat sowie dessen *Bias corrected and accelerated bootstrap 95 %-Konfidenzintervall* (95 %-KI) dargestellt. Es zeigt sich, wie unterschiedlich stark ausgeprägt die Saisonalität der 25(OH)D-Spiegel ist. Während bereits ab Oktober eine deutliche Abnahme der 25(OH)D-Serumkonzentration des Kollektivs kaukasischer Herkunft festzustellen ist, so steigt der 25(OH)D-Spiegel ab April beziehungsweise Mai wieder deutlich an.

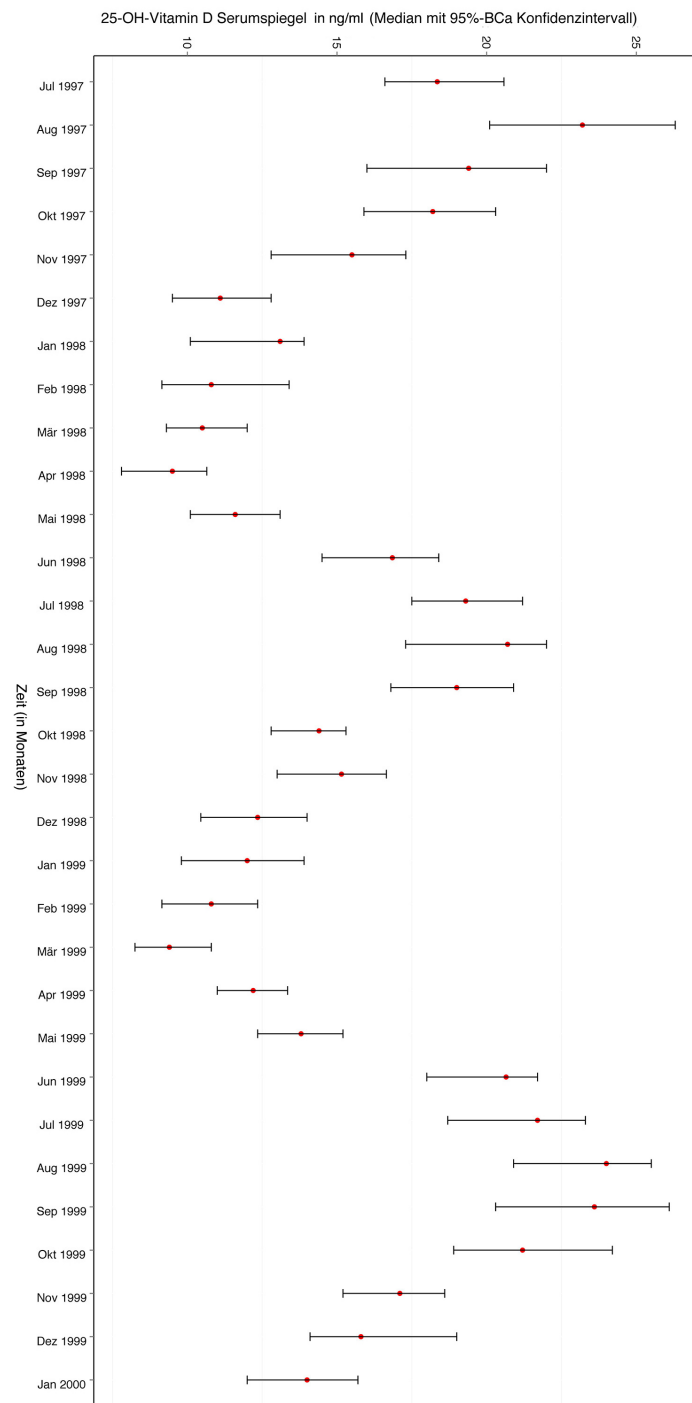


Abbildung 9: Saisonaler Verlauf des 25(OH)D-Serumspiegels

4.7 Abhängigkeit des 25(OH)D-Serumspiegels vom Geschlecht

Es wurde untersucht, welchen Einfluss das Geschlecht auf die 25(OH)D-Serumkonzentration hat. Es zeigte sich, dass das männliche Geschlecht einen im Durchschnitt statistisch signifikant ($p < 0,001$) niedrigeren 25(OH)D-Serumspiegel hat als das weibliche Geschlecht. Dies ist in Abbildung 10 grafisch dargestellt. Das Gesamtkollektiv besteht dabei anteilig aus 70 % ($n = 2.129$) weiblichen und 30 % ($n = 911$) männlichen Probanden.

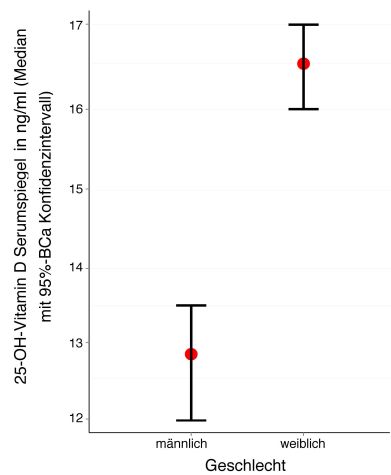


Abbildung 10: Gegenüberstellung des 25(OH)D-Status des männlichen und weiblichen Geschlechts

5 Diskussion

Die Funktion von p53 als Tumorsuppressor ist über Jahrzehnte hinweg dokumentiert worden [72]. Mit der Entdeckung seiner Bedeutung für die UV-induzierte Pigmentierung der Haut und somit möglicherweise der indirekten Beeinflussung des Vitamin-D-Serumspiegels gelangte es erneut ins Zentrum des Interesses [15]. Wie zahlreiche Studien belegen, ist Vitamin-D-Mangel nicht ausschließlich mit Störungen im Kalzium-Phosphat-Haushalt, sondern mit einer Vielzahl weiterer Erkrankungen wie arterieller Hypertonie, kardiovaskulären Erkrankungen sowie Tumoren assoziiert [31, 36, 80, 108, 109, 115, 135]. Dabei handelt es sich um Erkrankungen, die in Deutschland zu den häufigsten Todesursachen zählen und somit auch einen entscheidenden Einfluss auf das Gesundheitssystem nehmen [118]. Besonders vor dem Hintergrund, dass sich ein Großteil der deutschen Bevölkerung in einer 25-Hydroxyvitamin D (25(OH)D)-Mangelsituation befindet [44], lag das Ziel dieser Arbeit darin, genetische Faktoren zu identifizieren, die mit dem 25(OH)D-Serumspiegel assoziiert sein könnten. Konkret wurden Genpolymorphismen (*single nucleotide polymorphisms* (SNPs)) der p53-Familie mit möglichem Bezug zur Hautpigmentierung hinsichtlich einer Assoziation mit der 25(OH)D-Serumkonzentration untersucht.

Bislang befindet sich die Suche nach Polymorphismen, die in Genen mit Bezug zur Hautpigmentierung liegen und den 25(OH)D-Serumspiegel beeinflussen, noch in der Anfangsphase. Es existieren bereits Hinweise darauf, dass es genetische Polymorphismen gibt, die mit der Pigmentierung in Verbindung gebracht werden. So gibt es beispielsweise Forschungen darüber, welchen Effekt der spezielle SNP in Position 72 des Tp53-Gens auf die Pigmentierung hat. Die beiden Aminosäuren Prolin und Arginin (Pro/Pro, Pro/Arg, Arg/Arg) sind in diesem Polymorphismus codiert. Während Prolin hinsichtlich der Transkriptionsinduktion aktiver ist, ist Arginin dies in Bezug auf die Apoptoseeinleitung.

Da abhängig vom Breitengrad in Äquatornähe eine Häufung des Allels für Prolin (Pro-Allel) beobachtet wird, könnte dies ein Hinweis auf eine stärkere Induktion von Proopiomelanocortin (POMC) durch dieses Allel und somit einer dunkleren Pigmentierung der Haut sein. Im Gegensatz dazu wird berichtet, dass das Allel für Arginin mit einem hellhäutigen Phänotyp einhergeht. Weitere Untersuchungen zeigen, dass der Melanocortin-1-Rezeptor (MC1R) für die schon im Kindesalter bestehende Veranlagung zur Bräunung bedeutend ist. Denn nur bei nicht mutiertem MC1R, sprich bei dunkelhaarigen Individuen, konnte eine Assoziation zwischen dem Pro-Allel und der Pigmentierung gefunden werden. Individuen mit mutiertem MC1R (rothaarig) und schwacher p53-vermittelter Pigmentierung zeigten diese Assoziation nicht. Eine schwächer ausfallende Bräunungsreaktion, basierend auf Variation im MC1R (rothaarig/hellhäutig), konnte durch den p53-Kodon-72-Polymorphismus nicht beeinflusst werden. Die Frage, warum Menschen mit zunächst scheinbar gleicher Pigmentierungsstärke doch in unterschiedlicher Ausprägung auf Sonnenlicht reagieren, könnte damit beantwortet werden. Demzufolge legen die Ergebnisse dieser Untersuchung nahe, dass sowohl der SNP in Position 72 des Tp53-Gens als auch Variationen im MC1R zur Beeinflussung des Pigmentierungsstatus im Stande sind [94]. Eine weitere Studie konnte allerdings keinen Bezug zwischen dem p53-Genotyp und der Pigmentierung feststellen, was in der Heterogenität des untersuchten Kollektivs begründet sein könnte [14]. Basierend auf diesen Erkenntnissen wäre es möglich, dass die Funktionsfähigkeit von p53 in der Evolution einen wesentlichen Einfluss auf den Selektionsprozess hatte. Wie gezeigt wird, nimmt die Häufigkeit des Polymorphismus im Tp53-Gen an Position 72 zu, je geringer die Distanz zum Äquator wird. Dies könnte einen Selektionsvorteil bei starker UV-Exposition dargestellt haben. Womöglich variiert die Induktionsstärke von POMC in Abhängigkeit von Polymorphismen in Genen des p53-Stoffwechselwegs [100]. Darüber, dass der Ursprung des Klimawandels auf der Zunahme menschlicher Emission von Treibhausgasen beruht, herrscht Einigkeit. Allerdings bieten die zu erwartenden Konsequenzen wie höhere Durchschnittstemperaturen, stärkere Wetterextreme sowie Klimazonenverschiebung, Anlass zur Diskussion [129]. Die neu entdeckte Funktion von p53 als möglicher Regulator der Hautpigmentierung könnte also auch zukünftig einen bedeutenden Einflussfaktor darstellen, der als Schutz vor Umwelteinflüssen wie der UV-Strahlung dient. Ferner könnten auf Basis dieses Pigmentierungsmechanismus Substanzen entwickelt werden, die über p53 als initiierenden Angriffspunkt eine sonnenexpositionsunabhängige gesteigerte Me-

laninsynthese und somit Schutz vor zu intensiver UV-Strahlung bieten könnten [100]. Im Rahmen dessen wurden in dieser Arbeit 91 Polymorphismen aus Genregionen der p53-Familie mit möglichem Bezug zur Hautpigmentierung hinsichtlich einer Assoziation mit dem 25(OH)D-Serumspiegel untersucht.

Wie einleitend bereits beschrieben wurde, ist in Keratinozyten der Epidermis POMC enthalten, aus welchem melanozytenstimulierendes Hormon (α -MSH) und β -Endorphin hervorgehen. Wird die Haut von UV-Strahlung getroffen, kann die Desoxyribonukleinsäure (DNA) epidermaler Keratinozyten geschädigt werden. Neuen Forschungsergebnissen zufolge induziert das Tumorsuppressorprotein p53, das die Haut vor weiterer Schädigung zu schützen versucht, möglicherweise die direkte Expression von POMC. Sein Spaltungsprodukt α -MSH führt zu gesteigerter Melaninsynthese. Dies konnte mit Versuchen an Mäusen bestätigt werden. p53-Knock-out-Mäuse lagerten demnach keine Melaninpigmente in die Haut ein [15]. Diese Ergebnisse blieben nicht undiskutiert. Ein Punkt, der weiterer Überlegung bedarf, ist die aus vorherigen Untersuchungen erworbene Erkenntnis, dass Mäuse bei denen das POMC-Gen ausgeschaltet wird (POMC-Knock-out-Mäuse) dennoch eine Pigmentierung entwickeln können. Das bedeutet, die melanozytäre Bildung von Melanin bleibt funktionsfähig, was dadurch erklärt werden könnte, dass der Melanozyt einer Vielzahl von Steuerungsmechanismen unterliegt [127]. In diesem Zusammenhang ist es möglich, dass dem melanozytären Rezeptor MC1R eine bedeutende Rolle zukommt. Er ist durch die Anlagerung von α -MSH und Adrenocorticotropin (ACTH), aber auch unabhängig von einer Anlagerung durch Bindungsproteine, aktivierbar [119]. Es könnte sein, dass im der Pigmentierung zugrunde liegenden Mechanismus p53 nicht als Haupteinflussgröße der Induktion anzusehen ist.

Die oben genannten Hinweise geben zu bedenken, dass es sich womöglich nicht um eine geradlinige, in eine Richtung verlaufende Signalgebung, sondern eine Regulation auf verschiedenen Wegen handeln könnte, in denen p53 ein Mitglied der die Hautpigmentierung regulierenden Steuerungsmaschinerie darstellt [126]. Zu entgegnen ist allerdings, dass es nicht der womöglich multipel regulierte Melanozyt ist, der die beträchtlichere Expression von POMC zeigt, sondern der Keratinozyt [15]. Im Hinblick auf die Versuchsbedingungen gibt es Zweifel daran, dass die von Cui u. a. erworbenen Erkenntnisse sich problemlos auf Reaktionsmechanismen humaner Haut übertragen lassen. Obgleich es Untersuchungen

an humaner Haut gab, so wurden keine Bereiche verwendet, die physiologischerweise der Sonnenstrahlung ausgesetzt sind, sondern die Vorhaut männlicher Genitale. Sie unterliegt zusätzlich hormonellem Einfluss, wobei Testosteron pigmentierungssteigernd wirken kann. Es wäre möglich, dass die beobachtete Induktion von POMC nur unter den speziell vorliegenden Versuchsbedingungen stattfindet, was Raum für weitere Nachforschung gäbe [126]. Dass p53 als Tumorsuppressorprotein entscheidend für die Entstehung von Tumoren ist, wird in zahlreichen Studien erörtert [72]. Neben dem zuvor beschriebenen Einfluss von p53 auf die Pigmentierung der Haut gibt es Untersuchungen dahingehend, ob die Pigmentierung in Tumoren auch in Bezug zu p53 stehen könnte. Der jüngst entdeckte Signalweg p53-vermittelter POMC-Induktion, die womöglich zu UV-bedingter Pigmentierung führt, könnte erklären, warum der Großteil der von Keratinozyten ausgehenden Basalzellkarzinome (BCCs) unpigmentiert ist: ohne funktionales p53 findet möglicherweise keine UV-bedingte Pigmentierung statt [15]. Jedoch konnten die Erkenntnisse verschiedener Studien noch nicht zu einer Übereinstimmung kommen. Während Cui u. a. eine Assoziation zwischen Melanozytenbesiedlung und p53-Status feststellt (p53-Wildtyp = pigmentiert, p53-Mutation = unpigmentiert) [15], kann dies in einer größer angelegten Studie nicht bestätigt werden. Hier zeigt sich vielmehr, dass auch in pigmentierten BCCs ein mutiertes p53 vorliegen kann [28].

In der vorliegenden Arbeit wurde nicht der direkte Einfluss von p53 auf POMC überprüft. Allerdings zeigte sich eine Assoziation zwischen dem 25(OH)D-Serumspiegel, der unter anderem durch die Pigmentierungsstärke beeinflusst wird, und einem Mitglied der p53-Familie. Aus 91 untersuchten Genpolymorphismen waren 4 SNPs nach der Primäranalyse mit signifikant ($p < 0,05$) erhöhten beziehungsweise erniedrigten 25(OH)D-Serumspiegeln assoziiert. Diese Polymorphismen sind alle im p63-Gen lokalisiert. Im paarweisen Vergleich der jeweils drei möglichen Genotypkombinationen pro SNP konnten drei SNPs auch nach Adjustierung ihre statistische Signifikanz ($p < 0,05$) erhalten. 9 SNPs in den Genen von p53, p63 und p73 waren mit relativ hohen $\Delta 25(\text{OH})\text{D}$ -Werten ($> 2,8 \text{ ng/ml}$) assoziiert, obgleich das Signifikanzniveau nicht erreicht wurde. Es wäre möglich, dass das relevante Allel bei zu wenigen Probanden des Studienkollektivs vorhanden war.

Neben der oben erläuterten, durch UV-Strahlung bedingten POMC-Induktion

über p53, scheint es eine Vielzahl an Mechanismen zu geben, in die p53 eingebunden ist, wobei der Einfluss auf die kutane Pigmentierung und der 25(OH)D-Serumspiegel (als indirektes Maß) den Endpunkt darstellen: Die Standardmethode zur Feststellung des Genotyps eines Labortieres sind molekulargenetische Untersuchungen, die das Tier auf Homo-, Heterozygotie und Transgenität prüfen. Eine Studie aus dem Jahr 2002 beschrieb, dass ein die Fellfarbe bestimmendes Tyrosinase-Minigen an p53 gekoppelt wurde. Folglich brachten p53^{+/+}-Mäuse (Wildtyp) weißes, p53^{+/-}-Mäuse (heterozygot) hellbraunes, und p53^{-/-}-Mäuse (homozygot mutiert) dunkelbraunes Fell hervor, wodurch der Genotyp der Labortiere schon anhand ihres Phänotyps unterscheidbar wurde [153]. Beim p53-Inhibitor Pifithrin- α (PFT) hingegen zeigte sich, dass, wenn er auf überpigmentierte Haut aufgetragen wird, eine Aufhellung erzielt wird. Untersuchungen an Keratinozyten und Melanozyten unterstreichen die Erkenntnisse vorheriger Studien, dass sowohl Zytokine als auch die Tyrosinase, die an der Melaninbildung beteiligt sind, durch p53 gesteuert werden [92]. Ferner wurde beobachtet, dass die UV-bedingte Pigmentierungsfähigkeit ausgeprägter ist, wenn Melanozyten gemeinsam mit Keratinozyten vorliegen als bei Melanozyten alleine. Nimmt man dies zusammen mit der Identifizierung keratinozytär abstammender Substrate, deren Expression zum Teil durch p53 reguliert wird, könnte die Bedeutung von p53 und Keratinozyten im Pigmentierungsvorgang wesentlich hervorgehoben werden. Doch die UV-Strahlung als Ausgangspunkt im Pigmentierungsvorgang könnte neben p53 die Aktivierung weiterer für die Melaninsynthese relevanter Gene vermitteln [32]. Einen weiteren Stoffwechselweg, über den p53 Einfluss auf die Pigmentierung nimmt, stellt das von Keratinozyten UV-abhängig freigesetzte und Melanozyten stimulierende Zytokin *KIT ligand* (KITLG) dar. Die Reaktion scheint auf einer Bindung von p53 an KITLG zu basieren und in einer gesteigerten Melaninbildung zu münden [138]. Am Mausmodell wird veranschaulicht, dass p53-Knock-out-Mäuse, in denen nach UV-Bestrahlung kein Anstieg von KITLG gemessen wird, im Gegensatz zu p53-Wildtyp-Mäusen einen hellen Phänotyp aufweisen [85]. Dies gibt einen zusätzlichen Hinweis darauf, dass es durch weitere Regelkreise auch unter Ausschaltung von POMC zur Pigmentierung kommen kann [127]. Die leichtere Pigmentierung der p53-Knock-out-Mäuse aus Untersuchungen im Jahr 2007 [15] könnte auf einen anderen Zusammenhang wie beispielsweise einer Veränderung im Tp53-Gen zurückzuführen sein [85]. Die Interpretation der Ergebnisse scheint zu diesem Zeitpunkt mit viel Bedacht gewählt werden zu müssen. Unter der großen Anzahl an Signalwegen, die die

Pigmentierung beeinflussen, könnte die p53-induzierte POMC-Aktivierung einen weiteren Mechanismus darstellen.

Auch die folgenden Erkenntnisse legen nahe, dass p53 und 1,25-Dihydroxyvitamin D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$) nicht nur auf einem Wege in Wechselwirkung treten. Aktiviertes Vitamin D (Calcitriol, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$) vermittelt seine Wirkung, indem es an den ubiquitär vorkommenden Vitamin-D-Rezeptor (VDR) bindet. Alle Mitglieder der p53-Familie haben möglicherweise direkten Einfluss auf diesen Rezeptor, was einen weiteren Kommunikationsweg von p53 und Vitamin D darstellt. Es gibt also Hinweise darauf, dass es direkte sowie indirekte Wege gibt, die ein gegenseitiges Interagieren ermöglichen [116].

In Anbetracht dieser zahlreichen Interaktionen wird deutlich, dass Bedarf besteht, durch genbasierte Untersuchungen weitere Faktoren ausfindig zu machen, die mit dem individuellen $25(\text{OH})\text{D}$ -Serumspiegel assoziiert sind. Im Rahmen dessen wurden in dieser Arbeit, basierend auf den Daten der *Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study* (LURIC)-Studie, 91 SNPs von 3.040 Patienten untersucht.

In Bezug auf diese Untersuchungen ist hervorzuheben, dass die Größe des untersuchten Kollektivs mit über 3.000 Individuen sehr groß ist. Eine weitere Besonderheit stellt die Reduktion genetischer Heterogenität dar, die durch den differenzierten Einschluss von Probanden kaukasischer Herkunft erreicht wurde [142]. Limitierend kommt hinzu, dass kein entsprechendes Vergleichskollektiv ähnlicher Größenordnung und genetischer Homogenität gefunden werden konnte.

In einer 2010 publizierten genomweiten Assoziationsstudie wurden ebenfalls Polymorphismen gesucht, die den Vitamin-D-Serumspiegel beeinflussen können, um ein möglicherweise vorliegendes Vitamin-D-Mangel-Risiko aufdecken zu können. Mit beinahe 34.000 untersuchten Individuen handelte es sich hierbei um ein ausgesprochen großes Untersuchungskollektiv [140]. Allerdings war nicht von einer annähernden genetischen Homogenität auszugehen, da die Individuen aus 15 Kohorten aus verschiedenen Ländern stammten, was einen Vergleich erschwert. In der LURIC-Studie wurde der Einfluss externer Faktoren dadurch gering gehalten, dass die Studienteilnehmer durch ihren Wohnort in Deutschland in derselben

Klimazone ähnlichen Umweltbedingungen ausgesetzt, wegen derselben Erkrankung in Behandlung und alle deutscher Abstammung waren, was den Faktor der Homogenität des Kollektivs zusätzlich erhöht.

Die im Kapitel 4 beschriebenen Ergebnisse weisen auf eine Assoziation von Polymorphismen in Genen der p53-Familie mit dem 25(OH)D-Status des Studienkollektivs hin. Somit wird mit der vorliegenden Arbeit die Hypothese unterstützt, dass es neben externen Faktoren wie Stärke der UV-Strahlung, Lebensgewohnheiten etc. einige individuelle Faktoren wie Hauttyp und Genpolymorphismen mit möglichem Bezug zur Hautpigmentierung gibt, die die 25(OH)D-Serumkonzentration der kaukasischen Bevölkerung beeinflussen können. Obgleich das Signifikanzniveau nicht in allen Fällen erreicht werden konnte, zeigte sich dennoch eine deutliche Tendenz hinsichtlich einer Korrelation von Genpolymorphismen der p53-Familie und dem 25(OH)D-Serumspiegel. Dies bestärkt die Theorie, dass p53 in seiner Rolle als möglicher Regulator der UV-induzierten Hautpigmentierung und der 25(OH)D-Serumkonzentration auch am evolutionären Selektionsprozess mitwirkte. In der linearen Regression, welche für Geschlecht, *body mass index* (BMI), Geburtsjahr und Monat der Blutentnahme adjustiert wurde, konnte ein R^2 (Determinationskoeffizient) zwischen 9,0 % und 9,2 % ermittelt werden. Dies zeigt auf, welcher Anteil der Varianz der 25(OH)D-Werte durch die Polymorphismen (SNPs) erklärt wird. Nimmt man Bezug zu der genomweiten Assoziationsstudie aus dem Jahr 2010, so betrug die Varianz der Vitamin-D-Serumkonzentration für drei der beschriebenen SNPs nur 1–4 % [140].

Wie bereits erläutert, hat UV-Exposition einen bedeutenden Einfluss auf den individuellen Vitamin-D-Status. Doch Studien weisen auch auf eine genetische Determination des Vitamin-D-Status hin; es wird eine Vererbbarkeitsrate von 29 % [124] bis 43 % [58] festgestellt. Eine genomweite Assoziationsstudie an 30.000 Probanden ergab vier Genloci aus dem Vitamin-D-Metabolismus, die zwar mit dem Vitamin-D-Status, nicht aber mit der Hautpigmentierung assoziiert waren [140]. Eine weitere Studie erhielt vergleichbare Resultate für zwei der vier Genloci [1].

Meistuntersucht sind die Genloci für folgende Enzyme des Vitamin-D-Stoffwechsels: Die **hepatische Hydroxylase CYP2R1** wandelt Vitamin D₃ in 25(OH)-D (Calcidiol) um. Ein Defekt im zugehörigen Gen führt zu erblich bedingter

Rachitis [12]. SNPs in diesem Gen korrelieren in verschiedenen Studien mit einem erniedrigten 25(OH)D- Spiegel [1, 13, 140]. Auch SNPs des für die **24-Hydroxylase (CYP24A1)** codierenden Gens, welches Einfluss auf den Abbau von 1,25(OH)₂D hat, werden mit einem erniedrigten 25(OH)D-Spiegel in Verbindung gebracht [1, 140]. Vitamin-D-abhängige Rachitis (VDAR) Typ 1 wird durch einen Gendefekt der **renalen 1 α -Hydroxylase**, der zu deren Unterfunktion führt, verursacht. Während infolge dessen der 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ (1,25-(OH)₂D₃)-Spiegel abfällt, ist ein normwertiger 25-Hydroxyvitamin D₃ (25(OH)-D₃)-Spiegel messbar. Hingegen ist der 1,25(OH)₂D-Spiegel bei der VDAR Typ 2 stark erhöht, wofür eine Mutation des Vitamin-D-Rezeptorgens verantwortlich ist [122].

Das Vitamin-D-Bindeprotein (VDBP) ist ebenfalls am Vitamin-D-Stoffwechsel beteiligt. Seine Genvarianten stehen in starker Korrelation mit dem 25(OH)D-Spiegel [1, 13, 140]. Das VDBP wird durch das GC-Gen codiert und transportiert zirkulierendes Vitamin D [152]. Wie beschrieben, wird 25(OH)D durch die **1 α -Hydroxylase (CYP27B1)** in 1,25(OH)₂D überführt. Hinsichtlich der Polymorphismen dieses Gens gibt es allerdings verschiedene Berichte. Während einige eine Assoziation zum 25(OH)D-Spiegel bestätigen [101, 112], wird dies in einer weiteren Studie größeren Umfangs widerlegt [13].

All diese Beispiele zeigen genetische Polymorphismen mit Einfluss auf den 25(OH)D-Spiegel, die zum Teil zu einer Vielzahl von Erkrankungen führen können. Genauso deuten die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit eine Assoziation der untersuchten genetischen Polymorphismen der p53-Familie mit der 25(OH)D-Serumkonzentration an. Besonders vor dem Hintergrund des weit verbreiteten Vitamin-D-Mangels wird die Relevanz dieser Thematik deutlich.

Der Vitamin-D-Status im humanen Organismus wird von einer Vielzahl von Einflussgrößen wie der individuellen Pigmentierung, dem Alter, vorherrschenden Wetterbedingungen, dem Breitengrad und der damit verbundenen UV-Strahlungsexposition bestimmt [49]. Daher sollte in dieser Arbeit neben genbasierten Tests auch die Abhängigkeit der 25(OH)D-Serumkonzentration von den jeweils herrschenden Jahreszeiten berücksichtigt werden. Zusätzlich wurde ermittelt, inwiefern sich der 25(OH)D-Serumspiegel zwischen den Geschlechtern unterscheidet.

Beim 25(OH)D-Status-Vergleich männlicher und weiblicher Patienten der LURIC-Studie wiesen Männer signifikant ($p < 0,001$) geringere 25(OH)D-Serumkonzentrationen auf als Frauen. Diese Tendenz zeigt sich auch in anderen publizierten Analysen. Beispielsweise beschreiben Hintzpeter u. a. einen Vitamin-D-Mangel bei 61 % der Frauen und sogar 68 % der Männer in Deutschland in den Wintermonaten [44]. Diese Geschlechterverteilung lässt sich jedoch nicht auf die gesamte deutsche Bevölkerung anwenden, da einige andere Studien, je nach untersuchter Kohorte, zum Teil geringere 25(OH)D-Spiegel bei Frauen beschreiben (beispielsweise [83]).

Die Untersuchung auf Saisonalität der 25(OH)D-Serumkonzentration ergab die typischen jahreszeitlichen Schwankungen mit dem stärksten Vitamin-D-Mangel im Winterhalbjahr von November bis April. Grund für diese jahreszeitlichen Schwankungen ist eine je nach Sonnenstand bzw. UV-Strahlungsintensität stärkere bzw. schwächere kutane Vitamin-D-Bildung. Somit ist die Vitamin-D-Synthese in den Wintermonaten beträchtlich eingeschränkt. Hintzpeter u. a. zeigen einen im Winterhalbjahr deutschlandweit vorliegenden Mangel an Vitamin D auf [44, 45]. Doch nicht nur Deutschland, sondern viele Länder der nördlichen Erdhalbkugel scheinen sich in den Wintermonaten in einer ausgeprägten Vitamin D Mangelsituation zu befinden [48, 121]. Da Vitamin D Studien zufolge sowohl einen Einfluss auf die Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen als auch auf die Gesamtmortalität zu haben scheint, wurden die vier nach der Primäranalyse signifikanten SNPs bezüglich ihres Einflusses auf das Gesamtüberleben untersucht. Es ergab sich anhand der Kaplan-Meier-Kurven und der Cox-Regression kein statistisch signifikanter Einfluss der getesteten SNPs auf die Überlebenswahrscheinlichkeit. Eine zu geringe Varianz des 25(OH)D-Serumspiegels könnte diesem Ergebnis zugrunde liegen.

Es wurden Untersuchungsergebnisse aufgezeigt, in denen sich genetische Polymorphismen auf den Vitamin-D-Serumspiegel auswirken. Auch Hinweisen auf die Bedeutung von p53 im UV-abhängigen sowie -unabhängigen Pigmentierungsprozess wurde nachgegangen. Des Weiteren kamen Möglichkeiten der Interaktion zwischen p53 und Vitamin D zur Darstellung. In der vorliegenden Arbeit wurde erstmals die Assoziation zwischen Polymorphismen der p53-Genfamilie und dem 25(OH)D-Serumspiegel in einem aus 3.040 Teilnehmern kaukasischer Herkunft bestehenden Kollektiv untersucht. Insgesamt vier der 91 untersuchten

SNPs waren nach der Primäranalyse im Vergleich zu der Gesamtkohorte mit einer signifikant ($p < 0,05$) erhöhten beziehungsweise erniedrigten 25(OH)D-Serumkonzentration assoziiert. Diese vier Polymorphismen befinden sich alle im p63-codierenden Gen. Im paarweisen Vergleich der jeweils drei möglichen Genotypkombinationen pro SNP konnten drei SNPs ihre statistische Signifikanz auch nach Adjustierung erhalten. Unsere Ergebnisse, zusammengenommen mit bereits durchgeführten Studien, sprechen dafür, dass Polymorphismen im p63-Gen mit dem 25(OH)D-Status assoziiert werden können. Dies ist vor dem Hintergrund zu sehen, dass die bisher gewonnenen Erkenntnisse erst die Grundlage weiterer Untersuchungen bilden sollen. Das Wissen bezüglich der Bedeutung von p53 in Bezug auf die individuelle Pigmentierung ist aktuell im Wachstum. Es bedarf weiterer Nachforschung, nicht zuletzt durch die hiesige Arbeit, um Erkenntnisse über die Funktion und mögliche Assoziation von p53 sowie seinen Familienmitgliedern p63 und p73 mit dem 25(OH)D-Serumspiegel zu sammeln. Es ist sicherlich wünschenswert und von Nöten, die hier festgestellten Erkenntnisse in weiteren Vergleichskollektiven zu bestätigen und zu ergänzen. Mit weiteren Studien auf diesem Gebiet könnte nach und nach das Verständnis über die Ursachen der Variabilität der Hautpigmentierung auf genetischer Ebene vergrößert werden. Die Ausprägung der kutanen Pigmentierung sollte nicht nur im Hinblick auf die menschliche Evolution, sondern auch in Anbetracht des weltweit verbreiteten Vitamin-D-Mangels auf großes Interesse stoßen.

6 Literaturverzeichnis

- 1 Ahn J, Yu K, Stolzenberg-Solomon R, Simon KC, McCullough ML, Gallicchio L, Jacobs EJ, Ascherio A, Helzlsouer K, Jacobs KB, Li Q, Weinstein SJ, Purdue M, Virtamo J, Horst R, Wheeler W, Chanock S, Hunter DJ, Hayes RB, Kraft P, Albanes D (2010). Genome-wide association study of circulating vitamin D levels. *Human molecular genetics* 19, 2739–45.
- 2 Baptiste N, Friedlander P, Chen X, Prives C (2002). The proline-rich domain of p53 is required for cooperation with anti-neoplastic agents to promote apoptosis of tumor cells. *Oncogene* 21, 9–21.
- 3 Beauséjour CM, Krtolica A, Galimi F, Narita M, Lowe SW, Yaswen P, Campisi J (2003). Reversal of human cellular senescence: roles of the p53 and p16 pathways. *The EMBO journal* 22, 4212–22.
- 4 Bergamaschi D, Samuels Y, Jin B, Duraisingham S, Crook T, Lu X (2004). ASPP1 and ASPP2: common activators of p53 family members. *Molecular and cellular biology* 24, 1341–50.
- 5 Blandino G, Dobbstein M (2004). p73 and p63: why do we still need them? *Cell cycle (Georgetown, Tex.)* 3, 886–94.
- 6 Brosh R, Rotter V (2009). When mutants gain new powers: news from the mutant p53 field. *Nature reviews. Cancer* 9, 701–13.
- 7 Bunz F, Dutriaux A, Lengauer C, Waldman T, Zhou S, Brown JP, Sedivy JM, Kinzler KW, Vogelstein B (1998). Requirement for p53 and p21 to sustain G2 arrest after DNA damage. *Science (New York, N.Y.)* 282, 1497–501.
- 8 Campisi J (2005). Senescent cells, tumor suppression, and organismal aging: good citizens, bad neighbors. *Cell* 120, 513–22.
- 9 Cashman KD, Hill TR, Lucey AJ, Taylor N, Seamans KM, Muldowney S, Fitzgerald AP, Flynn A, Barnes MS, Horigan G, Bonham MP, Duffy EM, Strain JJ, Wallace JMW, Kiely M (2008). Estimation of the dietary requirement for vitamin D in healthy adults. *The American journal of clinical nutrition* 88, 1535–42.
- 10 Chakraborty AK, Funasaka Y, Slominski A, Ermak G, Hwang J, Pawelek JM, Ichihashi M (1996). Production and release of proopiomelanocortin (POMC) derived peptides by human melanocytes and keratinocytes in culture: regulation by ultraviolet B. *Biochimica et biophysica acta* 1313, 130–8.
- 11 Chen H, Weng QY, Fisher DE (2014). UV signaling pathways within the skin. *The Journal of investigative dermatology* 134, 2080–5.

- 12 Cheng JB, Levine MA, Bell NH, Mangelsdorf DJ, Russell DW (2004). Genetic evidence that the human CYP2R1 enzyme is a key vitamin D 25-hydroxylase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101, 7711–5.
- 13 Cooper JD, Smyth DJ, Walker NM, Stevens H, Burren OS, Wallace C, Greissl C, Ramos-Lopez E, Hyppönen E, Dunger DB, Spector TD, Ouwehand WH, Wang TJ, Badenhop K, Todd JA (2011). Inherited variation in vitamin D genes is associated with predisposition to autoimmune disease type 1 diabetes. *Diabetes* 60, 1624–31.
- 14 Costa KA, Guillo LA (2012). TP53 codon 72 polymorphism in pigmentary phenotypes. *Journal of biosciences* 37, 33–9.
- 15 Cui R, Widlund HR, Feige E, Lin JY, Wilensky DL, Igras VE, D’Orazio J, Fung CY, Schanbacher CF, Granter SR, Fisher DE (2007). Central role of p53 in the suntan response and pathologic hyperpigmentation. *Cell* 128, 853–64.
- 16 Deeb KK, Trump DL, Johnson CS (2007). Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nature reviews. Cancer* 7, 684–700.
- 17 DeLeo AB, Jay G, Appella E, Dubois GC, Law LW, Old LJ (1979). Detection of a transformation-related antigen in chemically induced sarcomas and other transformed cells of the mouse. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 76, 2420–4.
- 18 Deyoung MP, Ellisen LW (2007). p63 and p73 in human cancer: defining the network. *Oncogene* 26, 5169–83.
- 19 Di Como CJ, Gaiddon C, Prives C (1999). p73 function is inhibited by tumor-derived p53 mutants in mammalian cells. *Molecular and cellular biology* 19, 1438–49.
- 20 Domke A, Groffklaus R, Niemann B, Przyrembel H, Richter K, Schmidt E, Weißenborn A, Wörner B, Ziegenhagen R (eds) (2004). *Verwendung von Vitaminen in Lebensmitteln – Toxikologische und ernährungsphysiologische Aspekte*, Techn. Ber, Berlin: Bundesinstitut für Risikobewertung.
- 21 Dötsch V (2009). p63 – ein neuer Wächter für das Genom: den Stammzellen auf der Spur. *Forschung Frankfurt: Wissenschaftsmagazin der Goethe-Universität* 23, 53–55.
- 22 Earnshaw WC, Martins LM, Kaufmann SH (1999). Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. *Annual review of biochemistry* 68, 383–424.
- 23 Esvelt RP, Schnoes HK, DeLuca HF (1979). Isolation and characterization of 1-alpha-hydroxy-23-carboxytetranorvitamin D: a major metabolite of 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Biochemistry* 18, 3977–83.
- 24 Evan GI, Vousden KH (2001). Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature* 411, 342–8.
- 25 Flores ER, Tsai KY, Crowley D, Sengupta S, Yang A, McKeon F, Jacks T

- (2002). p63 and p73 are required for p53-dependent apoptosis in response to DNA damage. *Nature* 416, 560–4.
- 26 Flores ER, Sengupta S, Miller JB, Newman JJ, Bronson R, Crowley D, Yang A, McKeon F, Jacks T (2005). Tumor predisposition in mice mutant for p63 and p73: evidence for broader tumor suppressor functions for the p53 family. *Cancer cell* 7, 363–73.
- 27 Foord OS, Bhattacharya P, Reich Z, Rotter V (1991). A DNA binding domain is contained in the C-terminus of wild type p53 protein. *Nucleic acids research* 19, 5191–8.
- 28 Frey LM, Houben R, Bröcker E-B (2011). Pigmentation, Melanocyte Colonization, and p53 Status in Basal Cell Carcinoma. *Journal of skin cancer* 2011, 349726.
- 29 Fritsch P, *Dermatologie und Venerologie für das Studium*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2009.
- 30 Gaiddon C, Lokshin M, Ahn J, Zhang T, Prives C (2001). A subset of tumor-derived mutant forms of p53 down-regulate p63 and p73 through a direct interaction with the p53 core domain. *Molecular and cellular biology* 21, 1874–87.
- 31 Garland CF, Gorham ED, Mohr SB, Garland FC (2009). Vitamin D for cancer prevention: global perspective. *Annals of epidemiology* 19, 468–83.
- 32 Gilchrist BA (2011). Molecular aspects of tanning. *The Journal of investigative dermatology* 131, E14–7.
- 33 Giono LE, Manfredi JJ (2006). The p53 tumor suppressor participates in multiple cell cycle checkpoints. *Journal of cellular physiology* 209, 13–20.
- 34 Goding CR (2000). Mitf from neural crest to melanoma: signal transduction and transcription in the melanocyte lineage. *Genes & development* 14, 1712–28.
- 35 Goldsmith LA (ed) (1991). *Biochemistry and physiology of the skin*, 2nd edition; Oxford University Press: New York.
- 36 Grant WB (2002). An estimate of premature cancer mortality in the U.S. due to inadequate doses of solar ultraviolet-B radiation. *Cancer* 94, 1867–75.
- 37 Gurova KV, Rokhlin OW, Budanov AV, Burdelya LG, Chumakov PM, Cohen MB, Gudkov AV (2003). Cooperation of two mutant p53 alleles contributes to Fas resistance of prostate carcinoma cells. *Cancer research* 63, 2905–12.
- 38 Hagenau T, Vest R, Gissel TN, Poulsen CS, Erlandsen M, Mosekilde L, Vestergaard P (2009). Global vitamin D levels in relation to age, gender, skin pigmentation and latitude: an ecologic meta-regression analysis. *Osteoporosis International* 20, 133–140.
- 39 Hall AR, Milner J (1997). Specific p53-DNA complexes contain an mdm2-related protein. *Oncogene* 14, 1371–6.
- 40 Harms K, Nozell S, Chen X (2004). The common and distinct target genes

- of the p53 family transcription factors. Cellular and molecular life sciences : CMLS 61, 822–42.
- 41 Harvey M, McArthur MJ, Montgomery CA, Butel JS, Bradley A, Donehower LA (1993). Spontaneous and carcinogen-induced tumorigenesis in p53-deficient mice. *Nature genetics* 5, 225–9.
 - 42 Heckman CJ, Manne SL (eds) (2012). *Shedding Light on Indoor Tanning*; Springer: pp. 202.
 - 43 Hinds PW, Mittnacht S, Dulic V, Arnold A, Reed SI, Weinberg RA (1992). Regulation of retinoblastoma protein functions by ectopic expression of human cyclins. *Cell* 70, 993–1006.
 - 44 Hintzpeter B, Mensink GBM, Thierfelder W, Müller MJ, Scheidt-Nave C (2008). Vitamin D status and health correlates among German adults. *European journal of clinical nutrition* 62, 1079–89.
 - 45 Hintzpeter B, Scheidt-Nave C, Müller MJ, Schenk L, Mensink GBM (2008). Higher prevalence of vitamin D deficiency is associated with immigrant background among children and adolescents in Germany. *The Journal of nutrition* 138, 1482–90.
 - 46 Holick MF (2003). Evolution and function of vitamin D. Recent results in cancer research. *Fortschritte der Krebsforschung. Progrès dans les recherches sur le cancer* 164, 3–28.
 - 47 Holick MF (2006). Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *The Journal of clinical investigation* 116, 2062–72.
 - 48 Holick MF (2007). Vitamin D deficiency. *The New England journal of medicine* 357, 266–81.
 - 49 Holick MF (ed) (2010). *Vitamin D – Physiology, Molecular Biology, and Clinical Applications*, 2nd edition; Humana Press: Totowa, NJ, pp. 1160.
 - 50 Holick MF, Jung EG (eds) (2012) Holick MF, in *Biologic Effects of Light 1998: Proceedings of a Symposium Basel, Switzerland November 1–3, 1998*; Springer Science & Business Media: pp. 10–32.
 - 51 Holick MF, Chen TC (2008). Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *The American journal of clinical nutrition* 87, 1080S–6S.
 - 52 Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM, Endocrine Society (2011). Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 96, 1911–30.
 - 53 Hollis BW (1996). Assessment of vitamin D nutritional and hormonal status: what to measure and how to do it. *Calcified tissue international* 58, 4–5.
 - 54 Hollis BW (2005). Circulating 25-hydroxyvitamin D levels indicative of vitamin D sufficiency: implications for establishing a new effective dietary intake recommendation for vitamin D. *The Journal of nutrition* 135, 317–22.

-
- 55 Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC (1991). p53 mutations in human cancers. *Science (New York, N.Y.)* 253, 49–53.
- 56 Houghton LA, Vieth R (2006). The case against ergocalciferol (vitamin D2) as a vitamin supplement. *The American journal of clinical nutrition* 84, 694–7.
- 57 Huldschinsky K (1919). Heilung von Rachitis durch künstliche Höhensonne. *DMW – Deutsche Medizinische Wochenschrift* 45, 712–713.
- 58 Hunter D, De Lange M, Snieder H, MacGregor AJ, Swaminathan R, Thakker RV, Spector TD (2001). Genetic contribution to bone metabolism, calcium excretion, and vitamin D and parathyroid hormone regulation. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 16, 371–8.
- 59 Hupp TR, Lane DP (1994). Allosteric activation of latent p53 tetramers. *Current biology : CB* 4, 865–75.
- 60 Iliakis G, Wang Y, Guan J, Wang H (2003). DNA damage checkpoint control in cells exposed to ionizing radiation. *Oncogene* 22, 5834–47.
- 61 Iwakuma T, Lozano G, Flores ER (2005). Li-Fraumeni syndrome: a p53 family affair. *Cell cycle (Georgetown, Tex.)* 4, 865–7.
- 62 Jones G (2007). Expanding role for vitamin D in chronic kidney disease: importance of blood 25-OH-D levels and extra-renal 1alpha-hydroxylase in the classical and nonclassical actions of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D(3). *Seminars in dialysis* 20, 316–24.
- 63 Jost CA, Marin MC, Kaelin WG (1997). p73 is a simian [correction of human] p53-related protein that can induce apoptosis. *Nature* 389, 191–4.
- 64 Kaeser MD, Iggo RD (2002). Chromatin immunoprecipitation analysis fails to support the latency model for regulation of p53 DNA binding activity in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99, 95–100.
- 65 Kaghad M, Bonnet H, Yang A, Creancier L, Biscan JC, Valent A, Minty A, Chalon P, Lelias JM, Dumont X, Ferrara P, McKeon F, Caput D (1997). Monoallelically expressed gene related to p53 at 1p36, a region frequently deleted in neuroblastoma and other human cancers. *Cell* 90, 809–19.
- 66 Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *British journal of cancer* 26, 239–57.
- 67 Kim E, Deppert W (2006). The versatile interactions of p53 with DNA: when flexibility serves specificity. *Cell death and differentiation* 13, 885–9.
- 68 Kovalev S, Marchenko N, Swendeman S, LaQuaglia M, Moll UM (1998). Expression level, allelic origin, and mutation analysis of the p73 gene in neuroblastoma tumors and cell lines. *Cell growth & differentiation : the molecular biology journal of the American Association for Cancer Research* 9, 897–903.
- 69 Kraemer KH, DiGiovanna JJ (1993). *Xeroderma Pigmentosum*. University of Washington, Seattle.

- 70 Krause R (2008). Vitamin-D-Status bei terminal Nierenkranken in Deutschland. *Nieren- und Hochdruckkrankheiten* 37.
- 71 Lacaze-Masmonteil T, de Keyzer Y, Luton JP, Kahn A, Bertagna X (1987). Characterization of proopiomelanocortin transcripts in human nonpituitary tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 84, 7261–5.
- 72 Lane DP (1992). Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature* 358, 15–6.
- 73 Lang GA, Iwakuma T, Suh Y-A, Liu G, Rao VA, Parant JM, Valentin-Vega YA, Terzian T, Caldwell LC, Strong LC, El-Naggar AK, Lozano G (2004). Gain of function of a p53 hot spot mutation in a mouse model of Li-Fraumeni syndrome. *Cell* 119, 861–72.
- 74 Laptenko O, Prives C (2006). Transcriptional regulation by p53: one protein, many possibilities. *Cell death and differentiation* 13, 951–61.
- 75 Lehmann B, Tiebel O, Meurer M (1999). Expression of vitamin D3 25-hydroxylase (CYP27) mRNA after induction by vitamin D3 or UVB radiation in keratinocytes of human skin equivalents – a preliminary study. *Archives of dermatological research* 291, 507–10.
- 76 Leist M, Jäättelä M (2001). Four deaths and a funeral: from caspases to alternative mechanisms. *Nature reviews. Molecular cell biology* 2, 589–98.
- 77 Lemmer B, Brune K, *Pharmakotherapie; Springer-Lehrbuch; Springer-Verlag: Berlin/Heidelberg, 2004.*
- 78 Lerner AB, McGuire JS (1961). Effect of alpha- and betamelanocyte stimulating hormones on the skin colour of man. *Nature* 189, 176–9.
- 79 Levine AJ, Wu MC, Chang A, Silver A, Attiyeh EF, Lin J, Epstein CB (1995). The spectrum of mutations at the p53 locus. Evidence for tissue-specific mutagenesis, selection of mutant alleles, and a "gain of function" phenotype. *Annals of the New York Academy of Sciences* 768, 111–28.
- 80 Li YC, Kong J, Wei M, Chen Z-F, Liu SQ, Cao L-P (2002). 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *The Journal of clinical investigation* 110, 229–38.
- 81 Lu D, Willard D, Patel IR, Kadwell S, Overton L, Kost T, Luther M, Chen W, Woychik RP, Wilkison WO (1994). Agouti protein is an antagonist of the melanocyte-stimulating-hormone receptor. *Nature* 371, 799–802.
- 82 Majno G, Joris I (1995). Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. *The American journal of pathology* 146, 3–15.
- 83 Manios Y, Moschonis G, Lambrinou CP, Mavrogianni C, Tsirigoti L, Hoeller U, Roos FF, Bendik I, Eggersdorfer M, Celis-Morales C, Livingstone KM, Marsaux CFM, Macready AL, Fallaize R, O'Donovan CB, Woolhead C, Forster H, Walsh MC, Navas-Carretero S, San-Cristobal R, Kolossa S, Hallmann J, Jarosz M, Surwiłło A, Traczyk I, Drevon CA, van Ommen B, Grimaldi K, Matthews JNS, Daniel H, Martinez JA, Lovegrove JA, Gibney ER, Brennan L, Saris WHM, Gibney M, Mathers JC, Food4Me Study (2017). Associations of vitamin D status with dietary intakes and

- physical activity levels among adults from seven European countries: the Food4Me study. *European Journal of Nutrition*.
- 84 Matsumura T, Zerrudo Z, Hayflick L (1979). Senescent human diploid cells in culture: survival, DNA synthesis and morphology. *Journal of gerontology* 34, 328–34.
- 85 McGowan KA, Li JZ, Park CY, Beaudry V, Tabor HK, Sabnis AJ, Zhang W, Fuchs H, de Angelis MH, Myers RM, Attardi LD, Barsh GS (2008). Ribosomal mutations cause p53-mediated dark skin and pleiotropic effects. *Nature genetics* 40, 963–70.
- 86 McGrath JA, Duijf PH, Doetsch V, Irvine AD, de Waal R, Vanmolkot KR, Wessagowit V, Kelly A, Atherton DJ, Griffiths WA, Orlow SJ, van Haeringen A, Ausems MG, Yang A, McKeon F, Bamshad MA, Brunner HG, Hamel BC, van Bokhoven H (2001). Hay-Wells syndrome is caused by heterozygous missense mutations in the SAM domain of p63. *Human molecular genetics* 10, 221–9.
- 87 McKinney K, Prives C (2005). Regulation of p53 DNA Binding. In 25 Years of p53 Research, Hainaut, P Wiman, KG (eds), 1st edition; Springer: Dordrecht, The Netherlands; chap. 2, pp. 27–52.
- 88 Melino G (2011). p63 is a suppressor of tumorigenesis and metastasis interacting with mutant p53. *Cell death and differentiation* 18, 1487–99.
- 89 Mills AA, Zheng B, Wang XJ, Vogel H, Roop DR, Bradley A (1999). p63 is a p53 homologue required for limb and epidermal morphogenesis. *Nature* 398, 708–13.
- 90 Morris HA, Anderson PH (2010). Autocrine and paracrine actions of vitamin d. *The Clinical biochemist. Reviews / Australian Association of Clinical Biochemists* 31, 129–38.
- 91 Mummenbrauer T, Janus F, Müller B, Wiesmüller L, Deppert W, Grosse F (1996). p53 Protein exhibits 3'-to-5' exonuclease activity. *Cell* 85, 1089–99.
- 92 Murase D, Hachiya A, Amano Y, Ohuchi A, Kitahara T, Takema Y (2009). The essential role of p53 in hyperpigmentation of the skin via regulation of paracrine melanogenic cytokine receptor signaling. *The Journal of biological chemistry* 284, 4343–53.
- 93 Murray-Zmijewski F, Slee EA, Lu X (2008). A complex barcode underlies the heterogeneous response of p53 to stress. *Nature reviews. Molecular cell biology* 9, 702–12.
- 94 Nan H, Qureshi AA, Hunter DJ, Han J (2008). Interaction between p53 codon 72 polymorphism and melanocortin 1 receptor variants on suntan response and cutaneous melanoma risk. *The British journal of dermatology* 159, 314–21.
- 95 National Center for Biotechnology Information (NCBI); National Library of Medicine (2016). Database of Single Nucleotide Polymorphisms (dbSNP).
- 96 Nicolai S, Rossi A, Di Daniele N, Melino G, Annicchiarico-Petruzzelli M,

- Raschellà G (2015). DNA repair and aging: the impact of the p53 family. *Aging* 7, 1050–65.
- 97 Olive KP, Tuveson DA, Ruhe ZC, Yin B, Willis NA, Bronson RT, Crowley D, Jacks T (2004). Mutant p53 gain of function in two mouse models of Li-Fraumeni syndrome. *Cell* 119, 847–60.
- 98 Olivier M, Eeles R, Hollstein M, Khan MA, Harris CC, Hainaut P (2002). The IARC TP53 database: new online mutation analysis and recommendations to users. *Human mutation* 19, 607–14.
- 99 Oren M (1985). The p53 cellular tumor antigen: gene structure, expression and protein properties. *Biochimica et biophysica acta* 823, 67–78.
- 100 Oren M, Bartek J (2007). The sunny side of p53. *Cell* 128, 826–8.
- 101 Orton S-M, Morris AP, Herrera BM, Ramagopalan SV, Lincoln MR, Chao MJ, Vieth R, Sadovnick AD, Ebers GC (2008). Evidence for genetic regulation of vitamin D status in twins with multiple sclerosis. *The American journal of clinical nutrition* 88, 441–7.
- 102 Ovesen L, Andersen R, Jakobsen J (2003). Geographical differences in vitamin D status, with particular reference to European countries. *The Proceedings of the Nutrition Society* 62, 813–21.
- 103 Owen-Schaub LB, Zhang W, Cusack JC, Angelo LS, Santee SM, Fujiwara T, Roth JA, Deisseroth AB, Zhang WW, Kruzel E (1995). Wild-type human p53 and a temperature-sensitive mutant induce Fas/APO-1 expression. *Molecular and cellular biology* 15, 3032–40.
- 104 Pathak M (1995). Functions of melanin and protection by melanin. In *Melanin: Its Role in Human Photoprotection*. Zeise L, Chedekel M, Fitzpatrick T (eds); Valdenmar Publishing Co: Overland Park, pp. 125–134.
- 105 Pausner N, Pyridinium-Crosslinks – Knochenstoffwechsel und Peritonealdialyse, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, 2000.
- 106 Peterlik M, Cross HS (2005). Vitamin D and calcium deficits predispose for multiple chronic diseases. *European journal of clinical investigation* 35, 290–304.
- 107 Peterlik M, Grant WB, Cross HS (2009). Calcium, vitamin D and cancer. *Anticancer research* 29, 3687–98.
- 108 Pilz S, Dobnig H, Winklhofer-Roob B, Riedmüller G, Fischer JE, Seelhorst U, Wellnitz B, Boehm BO, März W (2008). Low serum levels of 25-hydroxyvitamin D predict fatal cancer in patients referred to coronary angiography. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* 17, 1228–33.
- 109 Pilz S, Tomaschitz A, Ritz E, Pieber TR (2009). Vitamin D status and arterial hypertension: a systematic review. *Nature reviews. Cardiology* 6, 621–30.
- 110 Prosser DE, Jones G (2004). Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D. *Trends in biochemical sciences* 29, 664–73.
- 111 Putz-Bankuti C, Pilz S, Stojakovic T, Scharnagl H, Pieber TR, Trau-

- ner M, Obermayer-Pietsch B, Stauber RE (2012). Association of 25-hydroxyvitamin D levels with liver dysfunction and mortality in chronic liver disease. *Liver international: official journal of the International Association for the Study of the Liver* 32, 845–51.
- 112 Ramos-Lopez E, Kahles H, Weber S, Kukic A, Penna-Martinez M, Badenhop K, Louwen F (2008). Gestational diabetes mellitus and vitamin D deficiency: genetic contribution of CYP27B1 and CYP2R1 polymorphisms. *Diabetes, obesity & metabolism* 10, 683–5.
- 113 Raposo G, Marks MS (2007). Melanosomes – dark organelles enlighten endosomal membrane transport. *Nature reviews. Molecular cell biology* 8, 786–97.
- 114 Reichrath J (2007). Sunlight, skin cancer and vitamin D: What are the conclusions of recent findings that protection against solar ultraviolet (UV) radiation causes 25-hydroxyvitamin D deficiency in solid organ-transplant recipients, xeroderma pigmentosum, and other risk groups? *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 103(3–5), 664–7.
- 115 Reichrath J, Lehmann B, Spitz J (eds) (2012). *Vitamin D – Update 2012*, 1st ed.; Dustri-Verlag: pp 256.
- 116 Reichrath J, Reichrath S, Heyne K, Vogt T, Roemer K (2014). Tumor suppression in skin and other tissues via cross-talk between vitamin D- and p53-signaling. *Frontiers in physiology* 5, 166.
- 117 Rivlin N, Brosh R, Oren M, Rotter V (2011). Mutations in the p53 Tumor Suppressor Gene: Important Milestones at the Various Steps of Tumorigenesis. *Genes & cancer* 2, 466–74.
- 118 Robert Koch-Institut in Zusammenarbeit mit dem Statistischen Bundesamt, *Gesundheit in Deutschland*, Techn. Ber, Berlin: Robert Koch-Institut, 2006.
- 119 Sánchez-Más J, Hahmann C, Gerritsen I, García-Borrón JC, Jiménez-Cervantes C (2004). Agonist-independent, high constitutive activity of the human melanocortin 1 receptor. *Pigment cell research / sponsored by the European Society for Pigment Cell Research and the International Pigment Cell Society* 17, 386–95.
- 120 Sasaki Y, Naishiro Y, Oshima Y, Imai K, Nakamura Y, Tokino T (2005). Identification of pigment epithelium-derived factor as a direct target of the p53 family member genes. *Oncogene* 24, 5131–6.
- 121 Scharla S (2003). Vitamin D: Häufigkeit, Ursachen und Folgen chronischer Unterversorgung. In *Calcium plus Vitamin D*, Ringe JD (eds); Georg Thieme Verlag: Stuttgart.
- 122 Schnabel D, Haffner D (2005). [Rickets. Diagnosis and therapy]. *Der Orthopäde* 34, 703–14; quiz 715–6.
- 123 Schwegler JS, Voll M, *Der Mensch : Anatomie und Physiologie ; Schritt für Schritt Zusammenhänge verstehen*; Thieme: 2002.
- 124 Shea MK, Benjamin EJ, Dupuis J, Massaro JM, Jacques PF, D’Agostino RB, Ordovas JM, O’Donnell CJ, Dawson-Hughes B, Vasan RS, Booth SL

- (2009). Genetic and non-genetic correlates of vitamins K and D. *European journal of clinical nutrition* 63, 458–64.
- 125 Sherr CJ, Roberts JM (1999). CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. *Genes & development* 13, 1501–12.
- 126 Slominski A, Plonka PM, Pisarchik A, Smart JL, Tolle V, Wortsman J, Low MJ (2005). Preservation of eumelanin hair pigmentation in proopiomelanocortin-deficient mice on a nonagouti (a/a) genetic background. *Endocrinology* 146, 1245–53.
- 127 Slominski A, Tobin DJ, Paus R (2007). Does p53 regulate skin pigmentation by controlling proopiomelanocortin gene transcription? *Pigment cell research / sponsored by the European Society for Pigment Cell Research and the International Pigment Cell Society* 20, 307–8; author reply 309–10.
- 128 Sollitto RB, Kraemer KH, DiGiovanna JJ (1997). Normal vitamin D levels can be maintained despite rigorous photoprotection: six years' experience with xeroderma pigmentosum. *Journal of the American Academy of Dermatology* 37, 942–7.
- 129 Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis M, Averyt K, Tignor M, Miller H (eds) (2007). IPCC, 2007: Summary for Policymakers. In *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*; Cambridge University Press: Cambridge, United Kingdom und New York, NY, USA.
- 130 Stiewe T, Pützer BM (2000). Role of the p53-homologue p73 in E2F1-induced apoptosis. *Nature genetics* 26, 464–9.
- 131 Sturm RA, Box NF, Ramsay M (1998). Human pigmentation genetics: the difference is only skin deep. *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology* 20, 712–21.
- 132 Sunahara M, Ichimiya S, Nimura Y, Takada N, Sakiyama S, Sato Y, Todo S, Adachi W, Amano J, Nakagawara A (1998). Mutational analysis of the p73 gene localized at chromosome 1p36.3 in colorectal carcinomas. *International journal of oncology* 13, 319–23.
- 133 The R Core Team, R: A Language and Environment for Statistical Computing, Techn. Ber, R Foundation for Statistical Computing, 2016.
- 134 Tripkovic L, Lambert H, Hart K, Smith CP, Bucca G, Penson S, Chope G, Hyppönen E, Berry J, Vieth R, Lanham-New S (2012). Comparison of vitamin D2 and vitamin D3 supplementation in raising serum 25-hydroxyvitamin D status: a systematic review and meta-analysis. *The American journal of clinical nutrition* 95, 1357–64.
- 135 Tuohimaa P, Pukkala E, Scélo G, Olsen JH, Brewster DH, Hemminki K, Tracey E, Weiderpass E, Kliewer EV, Pompe-Kirn V, McBride ML, Martos C, Chia K-S, Tonita JM, Jonasson JG, Boffetta P, Brennan P (2007). Does solar exposure, as indicated by the non-melanoma skin cancers, protect from solid cancers: vitamin D as a possible explanation. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)* 43, 1701–12.

-
- 136 Vermeulen K, Van Bockstaele DR, Berneman ZN (2005). Apoptosis: mechanisms and relevance in cancer. *Annals of hematology* 84, 627–39.
- 137 Vogelstein B, Lane D, Levine AJ (2000). Surfing the p53 network. *Nature* 408, 307–10.
- 138 Walker G, Box N (2008). Ribosomal stress, p53 activation and the tanning response. *Expert review of dermatology* 3, 649–656.
- 139 Walker KK, Levine AJ (1996). Identification of a novel p53 functional domain that is necessary for efficient growth suppression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93, 15335–40.
- 140 Wang TJ et al. (2010). Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. *Lancet (London, England)* 376, 180–8.
- 141 Webley K, Bond JA, Jones CJ, Blaydes JP, Craig A, Hupp T, Wynford-Thomas D (2000). Posttranslational modifications of p53 in replicative senescence overlapping but distinct from those induced by DNA damage. *Molecular and cellular biology* 20, 2803–8.
- 142 Winkelmann BR, März W, Boehm BO, Zotz R, Hager J, Hellstern P, Senges J, LURIC Study Group (LUDwigshafen RIsk and Cardiovascular Health) (2001). Rationale and design of the LURIC study – a resource for functional genomics, pharmacogenomics and long-term prognosis of cardiovascular disease. *Pharmacogenomics* 2, S1–73.
- 143 Wright WE, Shay JW (1992). The two-stage mechanism controlling cellular senescence and immortalization. *Experimental gerontology* 27, 383–9.
- 144 Wu GS, Burns TF, McDonald ER, Jiang W, Meng R, Krantz ID, Kao G, Gan DD, Zhou JY, Muschel R, Hamilton SR, Spinner NB, Markowitz S, Wu G, El-Deiry WS (1997). KILLER/DR5 is a DNA damage-inducible p53-regulated death receptor gene. *Nature genetics* 17, 141–3.
- 145 Xiong Y, Hannon GJ, Zhang H, Casso D, Kobayashi R, Beach D (1993). p21 is a universal inhibitor of cyclin kinases. *Nature* 366, 701–4.
- 146 Yamaguchi Y, Takahashi K, Zmudzka BZ, Kornhauser A, Miller SA, Tadokoro T, Berens W, Beer JZ, Hearing VJ (2006). Human skin responses to UV radiation: pigment in the upper epidermis protects against DNA damage in the lower epidermis and facilitates apoptosis. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 20, 1486–8.
- 147 Yang A, Kaghad M, Wang Y, Gillett E, Fleming MD, Dötsch V, Andrews NC, Caput D, McKeon F (1998). p63, a p53 homolog at 3q27-29, encodes multiple products with transactivating, death-inducing, and dominant-negative activities. *Molecular cell* 2, 305–16.
- 148 Yang A, Schweitzer R, Sun D, Kaghad M, Walker N, Bronson RT, Tabin C, Sharpe A, Caput D, Crum C, McKeon F (1999). p63 is essential for regenerative proliferation in limb, craniofacial and epithelial development. *Nature* 398, 714–8.

- 149 Yang A, Walker N, Bronson R, Kaghad M, Oosterwegel M, Bonnin J, Vagner C, Bonnet H, Dikkes P, Sharpe A, McKeon F, Caput D (2000). p73-deficient mice have neurological, pheromonal and inflammatory defects but lack spontaneous tumours. *Nature* 404, 99–103.
- 150 Zaika A, Irwin M, Sansome C, Moll UM (2001). Oncogenes induce and activate endogenous p73 protein. *The Journal of biological chemistry* 276, 11310–6.
- 151 Zaika AI, Kovalev S, Marchenko ND, Moll UM (1999). Overexpression of the wild type p73 gene in breast cancer tissues and cell lines. *Cancer research* 59, 3257–63.
- 152 Zerwekh JE (2008). Blood biomarkers of vitamin D status. *The American journal of clinical nutrition* 87, 1087S–91S.
- 153 Zheng B, Vogel H, Donehower LA, Bradley A (2002). Visual genotyping of a coat color tagged p53 mutant mouse line. *Cancer biology & therapy* 1, 433–5.
- 154 Zierold C, Darwish HM, DeLuca HF (1994). Identification of a vitamin D-response element in the rat calcidiol (25-hydroxyvitamin D₃) 25-hydroxylase gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91, 900–2.

7 Tabellenverzeichnis

1	25-Hydroxyvitamin-D-Referenzbereiche	10
2	Formen des Vitamin D (Nomenklatur)	12
3	Überblick relevanter SNPs mit Zuordnung zum entsprechenden Gen, Genprodukt sowie Chromosomenlokalisierung	39
4	Überblick über den Zusammenhang zwischen SNPs (insgesamt n=91) mit möglichem Bezug zur Hautpigmentierung und dem 25-(OH)D-Serumspiegel	48
5	Zusammenhang zwischen SNPs mit möglichem Bezug zur Hautpigmentierung und dem 25(OH)D-Serumspiegel	57
6	Paarweiser Vergleich der drei möglichen Genotypkombinationen eines SNPs anhand des Mann-Whitney-U-Tests.	58
7	9 SNPs mit den höchsten beziehungsweise niedrigsten Differenzen im 25(OH)D-Serumspiegel im Vergleich zum Gesamtkollektiv	59
8	Durchschnittliche Überlebenszeit der vier statistisch signifikanten SNPs entsprechend ihrer zugehörigen Genotypsequenz	63

8 Abbildungsverzeichnis

1	Stoffwechselwege des Vitamin D	13
2	Schematische Darstellung der strukturellen Organisation des p53-Proteins	19
3	UV-bedingte Karzinogenese und Mechanismen der Hautpigmentierung auf molekularer Ebene	29
4	Häufigkeitsverteilung der 25(OH)D-Serumspiegel	56
5	Kaplan-Meier-Kurven für rs4687087	61
6	Kaplan-Meier-Kurven für rs12630584	61
7	Kaplan-Meier-Kurven für rs16864784	62
8	Kaplan-Meier-Kurven für rs9681004	62
9	Saisonaler Verlauf des 25(OH)D-Serumspiegels	64
10	Gegenüberstellung des 25(OH)D-Status des männlichen und weiblichen Geschlechts	65

9 Abkürzungsverzeichnis

1,25(OH) ₂ D	1,25-Dihydroxyvitamin D
25(OH)D	25-Hydroxyvitamin D
7DHC	7-Dehydrocholesterol
95 %-KI	<i>Bias corrected and accelerated bootstrap</i> 95 %-Konfidenzintervall
ACTH	Adrenocorticotropin
AD	Aktivierungsdomäne
ASIP	<i>agouti signalling protein</i>
BCC	Basalzellkarzinom
BMI	<i>body mass index</i>
cAMP	<i>cyclic adenosine monophosphate</i>
CDK	<i>cyclin-dependent kinase</i>
CPD	<i>cyclobutane pyrimidine dimer</i>
C-Terminus	Carboxyterminus
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DOPA	Dihydroxyphenylalanin
FDR	<i>false discovery rate</i>
KITLG	<i>KIT ligand</i>
LURIC	<i>Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study</i>
MC1R	Melanocortin-1-Rezeptor
MDM2	<i>mouse double minute 2</i>
MITF	Microphthalmie-assoziiertes Transkriptionsfaktor
α-MSH	melanozytenstimulierendes Hormon
N-Terminus	Aminoterminus
PEDF	<i>pigment epithelium-derived factor</i>
PFT	Pifithrin-α
POMC	Proopiomelanocortin
pRB	Retinoblastomprotein
PRD	prolinreiche Domäne

PTH	Parathormon
SAM	<i>sterile alpha motif</i>
SNP	<i>single nucleotide polymorphism</i>
TAD	N-terminale Transaktivierungsdomäne
TD	Tetramerisationsdomäne
VDAR	Vitamin-D-abhängige Rachitis
VDBP	Vitamin-D-Bindeprotein
VDR	Vitamin-D-Rezeptor
WT	Wildtyp

10 Danksagung

Ich möchte mich hiermit bei Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Vogt, Direktor der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, bedanken, der mir die Möglichkeit gegeben hat, diese Arbeit unter seiner Leitung durchzuführen.

Herrn Prof. Dr. med. Jörg Reichrath danke ich für die Überlassung des interessanten Themas und die ausgezeichnete Betreuung, die sich durch stetige Unterstützung, Verlässlichkeit und Geduld in allen Phasen meiner Promotion zeigte. Auch die Teilnahme an themenrelevanten Kongressen wurde mir stets ermöglicht.

Herrn Prof. Dr. med. Winfried März, Leiter der LURIC-Studie, und Dr. rer. nat. Marcus Kleber danke ich für die Bereitstellung der im Rahmen der *Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study* erhobenen Daten.

Herrn Dr. med. Roman Saternus danke ich, da er mir stets mit Rat und seiner Vorerfahrung zur Seite stand.

Besonderer Dank geht an Herrn Jakob Schöpe aus dem Institut für Biometrie, Epidemiologie und Informatik für die kompetente Beratung und hervorragende Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Daten.

Besonderer Dank gilt des Weiteren Frau Dr. rer. nat. Susanne Duncker, die mir im schriftlichen Part meiner Dissertation mit exzellenter Beratung und Hilfestellung zur Seite stand.

Ich danke allen Patienten, die an der *Ludwigshafen Risk and Cardiovascular*

Health Study teilgenommen haben und damit weitere Forschung und neue Erkenntnisse ermöglichen haben.

Bei meiner Familie möchte ich mich ganz herzlich bedanken für den uneingeschränkten Beistand während meines gesamten Studiums.

Ich widme diese Arbeit meiner Mutter, Elke Smolczyk.