

III. Einleitung

1. Kolorektales Karzinom

Das kolorektale Karzinom ist, nach dem Bronchialkarzinom beim Mann und nach dem Mammakarzinom der Frau, die zweithäufigste durch Krebs bedingte Todesursache in den westlichen Industrienationen [1–3]. Die Erkrankung entsteht vor allem im Kolon und Rektum. Kolonkarzinome und Rektumkarzinome (gemeinsam „kolorektale Karzinome“ genannt) entstehen sehr häufig. Etwa 45 % der kolorektalen Tumore liegen im Rektum, 30 % im Sigma, 12,5 % im Zäkum und Kolon ascendens, 3,5 % im Querkolon, 2 % im Kolon descendens und jeweils 3 % in der linken und rechten Kolonbiegung, während Karzinome im Analbereich nur etwa 1 % aller Darmkarzinome ausmachen (Fig. 1). Die Prävalenz der Tumore im rechten Hemikolon ist zunehmend [4, 5].

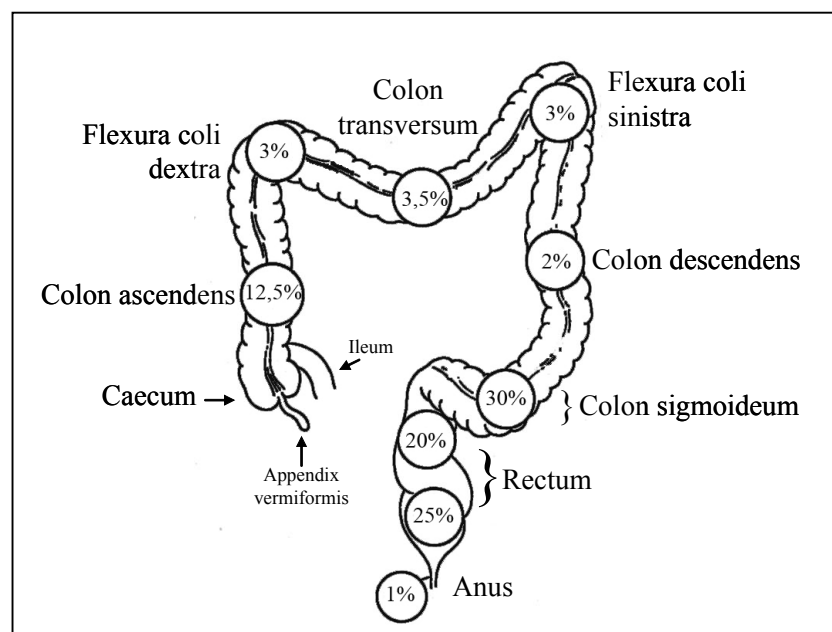


Fig. 1: Prozentuale Verteilung der Karzinome in verschiedenen Kolonsegmenten

Der Tumor tritt nur selten vor dem 40. Lebensjahr auf, wobei die Häufigkeit ab diesem Alter jedoch stetig ansteigt [1, 3]. In sozioökonomisch weit entwickelten Ländern sind kolorektale Karzinome häufiger als in Schwellen- und Entwicklungsländern zu beobachten. Risikofaktoren, die die kolorektalen Karzinome begünstigen, sind erbliche Veranlagungen, chronisch entzündliche Darmerkrankungen und ballaststoffarme Ernährung.

Die Therapie der Wahl ist die Operation. Dabei wird der vom Tumor betroffene Darmteil mit einem bestimmten Sicherheitsabstand entfernt. Bei Tumoren im UICC-Stadium III und IV wird ergänzend eine Chemotherapie, speziell beim Rektumkarzinom auch eine Strahlentherapie durchgeführt. Auch einzelne Metastasen, vor allem in der Leber, können so behandelt werden.

Die Heilungschancen hängen vor allem von dem UICC-Stadium des operierten Tumors ab (Tabelle 1D).

Zur exakten Beschreibung der Tumorausbreitung hat sich die UICC-Klassifikation mit der TNM-Einteilung und Stadiengruppierung durchgesetzt [6, 7]. Die TNM-Klassifikation definiert die Größe des Primärtumors (T), die Infiltration und die Ausbreitung in die regionären Lymphknoten (N) sowie die Fernmetastasen (M) (Tabelle 1 A-C).

A	<u>T (Ausbreitung des Primärtumors):</u>					
	TX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden				
	T0	kein Anhalt für Primärtumor				
	Tis	Carcinoma in situ				
	T1	Tumor infiltriert Submukosa				
	T2	Tumor infiltriert Muscularis propria				
	T3	Tumor infiltriert durch die Muscularis propria in die Subserosa oder in nicht peritonealisiertes perikolisches oder perirektales Gewebe				
T4	Tumor infiltriert direkt in andere Organe oder Strukturen und/oder perforiert das viszerale Peritoneum					
B	<u>N (Fehlen oder Vorhandensein und Ausbreitung von regionären Lymphknotenmetastasen):</u>					
	NX	regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden				
	N0	keine regionäre Lymphknotenmetastasen				
	N1	Metastasen in 1 bis 3 regionären Lymphknoten				
	N2	Metastasen in 4 oder mehr regionären Lymphknoten				
C	<u>M (Fehlen oder Vorhandensein von Fernmetastasen):</u>					
	MX	Fernmetastasen können nicht beurteilt werden				
	M0	keine Fernmetastasen				
	M1	Fernmetastasen				
D	<u>Stadiengruppierung:</u>					
	UICC	TNM			Dukes	5-JÜR in %
	Stadium 0	Tis	N0	M0		
	Stadium I A	T1	N0	M0	A	} 80 - 90
	B	T2	N0	M0	B ₁	
	Stadium II	T3-4	N0	M0	B _{2/3}	60 - 70
	Stadium III	jedes T	N1-2	M0	C ₁₋₃	30 - 40
	Stadium IV	jedes T	jedes N	M1	D	5 - 25
Stadium X	keine verwertbare TNM-Dokumentation					

Tabelle 1: **A-C:** TNM-System und **D:** Stadiengruppierung aus der TNM-Klassifikation nach UICC und Dukes [8] sowie die dazugehörigen Überlebensraten [9, 10]. Dukes-Klassifikation, heute obsolet.

Die 5-Jahresüberlebensrate (5-JÜR) aller kolorektalen Karzinome beträgt 50–55 %. Patienten mit Tumoren im UICC-Stadium I haben eine 5-JÜR von ca. 80–90 %, im Stadium II nur noch 60–70 %, im Stadium III 30–40 % und im Stadium IV 5–20 %. Bei Tumoren im UICC-Stadium IV mit solitären, R0-entfernbaren Lebermetastasen ist die 5-JÜR 25–35 % [10].

1.1. Ätiologie

98 % der kolorektalen Karzinome sind Adenokarzinome, von denen 10 % auf hereditäre Faktoren und 90 % auf exogene Faktoren zurückgeführt werden können. Zu den hereditären Prädispositionen zählt man die familiäre adenomatöse Polyposis (FAP), das Lynch-Syndrom (HNPCC), das Gardner-Syndrom und das Peutz-Jeghers-Syndrom [11]. Zu den exogenen Faktoren zählen die Ernährung, die Lebensgewohnheiten, die chronischen entzündlichen Darmerkrankungen und die iatrogenen Faktoren.

1.1.1. Hereditäre Prädisposition

Es sind mehrere vererbare Gendefekte bekannt, die zu hohem Risiko für kolorektale Karzinome beitragen. Für 10–15 % aller kolorektalen Karzinome wird ein fest definierter Vererbungsmodus angenommen. Tabelle 2 gibt eine Übersicht über die bisher identifizierten Gene und das verursachte Tumorsyndrom.

Erkrankung	Gen	Chromosomale Lokalisation
FAP	APC	5q21-22
HNPCC	MMR-Gene	2, 3, 5, 7
Gardner-Syndrom	APC	5q21-22
Peutz-Jeghers-Syndrom	STK11/LKB1	19p13.3
Juvenile Polyposis	SMAD4/DPC4	18q21.1
Cowden-Syndrom	PTEN/MMAC1	10q22.3-q24.1

Tabelle 2: Autosomal-dominant vererbare Kolonkarzinom-Syndrome mit Genlokus [12-24]

1.1.1.1. Familiäre adenomatöse Polyposis (FAP)

Die familiäre adenomatöse Polyposis ist gekennzeichnet durch Hunderte bis zu mehreren Tausend im Dickdarm vorhandener Polypen, aus denen sich Karzinome entwickeln können. FAP ist eine autosomal-dominant vererbare Erkrankung, verursacht durch eine Punktmutation im APC-Gen (Adenomatöse Polyposis Coli-Gen) [13, 25, 26]. Die FAP ist zwar nur für ca. 1 % aller kolorektalen Karzinome verantwortlich [27], weist aber eine Penetranz von 90–100 % auf.

1.1.1.2. HNPCC (Lynch-Syndrom)

Das hereditäre kolorektale Karzinom ohne Polyposis (englisch „*Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer*“, abgekürzt HNPCC, auch Lynch-Syndrom) ist für 5–8 % der kolorektalen Karzinome verantwortlich [27, 28]. Es handelt sich um eine autosomal-dominant vererbare Erkrankung: Eine Mutation in einem der Gene des DNA-*Mismatch*-Reparatur (MMR)-Systems (hMLH1, hMSH2, hMSH6, hPMS1, hPMS2) [25, 26, 29] ist für etwa 90 % der HNPCC-Fälle verantwortlich (Tabelle 3). In ca. 30 % der HNPCC-Fälle findet sich eine Mutation im hMSH2-

Gen und zu ca. 60 % im hMLH1-Gen [25, 26, 30]. Weitere Gene des MMR-Systems, die bei HNPCC mutiert sein können, sind hPMS1, das in 2–7 %, und hPMS2, das in 4–7 % der Fälle Mutationen aufweist. Die Tatsache, dass die Häufigkeiten in einem breiten Bereich streuen, ist auf die Untersuchung verschiedener Populationen zurückzuführen. Mutationen des hMSH6-Gens finden sich nur vereinzelt [31]. Die Penetranz der Erkrankung beträgt etwa 80–90 %.

Gen	Genort	Häufigkeit
<i>hMSH2</i>	Chromosom 2p21-22	30%
<i>hMLH1</i>	Chromosom 3p21.3	60%
<i>hPMS1</i>	Chromosom 2q31-33	5%
<i>hPMS2</i>	Chromosom 7p22	5%
<i>hMSH6</i>	Chromosom 2p16	vereinzelt

Tabelle 3: *Hauptverantwortliche HNPCC-Gene [31]*

Häufigkeit von Mutationen der Gene des MMR-Systems bei Patientenkollektiven mit Lynch-Syndrom

1.1.1.3. Gardner-Syndrom

Die Assoziation von FAP, Desmoidzysten und benignen Exostosen wird als Gardner-Syndrom bezeichnet. Dieses wird autosomal-dominant vererbt und ist mit einer disseminierten Adenomatose des Kolons, häufig auch des Magens und des Dünndarms assoziiert. Die Polypen treten ab dem 10. Lebensjahr auf und haben insbesondere ab der 30. Lebensdekade eine hohe Tendenz zur malignen Entartung. Alle Patienten mit Gardner-Syndrom erkranken im Laufe ihres Lebens an Kolonkarzinomen [1, 3]. Das Gardner-Syndrom wird wie die FAP durch eine Mutation im APC-Gen auf dem Chromosom 5q21-22 verursacht. Die Krankheit wird als phänotypische Variante der familiären adenomatösen Polyposis (FAP) interpretiert (d. h., es besteht ein fließender Übergang).

1.1.1.4. Peutz-Jeghers-Syndrom

Kennzeichnend für die relativ seltene (Prävalenz von 1:120.000) [1, 3] autosomal-dominante Erkrankung ist das Auftreten von charakteristischen Polypen mit großen Anteilen an nichtdysplastischen Epithelzellen im Dünndarm und Pigmentflecken auf den Lippen- und Wangenschleimhäuten. Bei etwa 60 % der Patienten mit Peutz-Jeghers-Syndrom wurde eine Keimbahnmutation in dem auf Chromosom 19p13.3 lokalisiertem STK11-Gen nachgewiesen [32, 33]. Dieses Gen kodiert für eine Serin-Threonin-Kinase [19], die als Tumorsuppressor-Gen vermutlich an der Regulation von Zellteilungs-, Differenzierungs- und Signaltransduktionsprozessen beteiligt ist [34]. Gegenüber der Normalbevölkerung ist bei dieser Erkrankung das Risiko, an einem kolorektalen Karzinom zu erkranken, deutlich erhöht (etwa 15-fach). Es liegt jedoch nicht bei 100 %.

1.1.2. Exogene Faktoren

1.1.2.1. Ernährung

Fettreiche [35] und faserarme Nahrung begünstigen das Auftreten von kolorektalen Karzinomen. Die Tumorentstehung ist außerdem mit häufigem Genuss von stark gesalzenem, gepökeltem oder geräuchertem Fleisch assoziiert. Die steigende Inzidenz des kolorektalen Karzinoms hängt also zum Teil mit den Ernährungsgewohnheiten zusammen. Eine ballaststoffreiche Kost senkt dagegen das Karzinomrisiko [36, 37]. Neuere Befunde sprechen für eine Vorbeugung von Kolonpolypen durch Kalzium- und Vitamin-D-Zufuhr [38].

1.1.2.2. Lebensgewohnheiten

Übergewicht, Bewegungsmangel [35] und das Rauchen begünstigen die Erkrankung von kolorektalen Karzinomen.

1.1.2.3. Chronische Darmerkrankungen

Zu den chronisch entzündlichen Darmerkrankungen gehören die ulzerative Kolitis und der Morbus Crohn. Diese Erkrankungen sind sich hinsichtlich ihrer Symptombehandlung und Komplikationen ähnlich. Meist treten sie im Jugend- oder Kindesalter auf. Beim Morbus Crohn handelt es sich um eine transmurale Entzündung des Darms, die zumeist im terminalen Ileum beginnt und sich diskontinuierlich im Dünn- und Dickdarm ausbreitet. Bei der ulzerativen Kolitis handelt es sich um eine chronische Entzündung der Dickdarmschleimhaut, die in der Regel im Rektum beginnt und sich kontinuierlich nach proximal ausdehnt. Das Risiko, beim Morbus Crohn an einem Kolonkarzinom zu erkranken, ist vier- bis siebenmal größer als bei der Normalbevölkerung. Bei der ulzerativen Kolitis ist dieses Risiko noch höher: Nach 25 Jahren Erkrankungsdauer bekommen 40 % der an Colitis ulcerosa Erkrankten Kolonkarzinome [1, 3].

1.1.2.4. Iatrogene Faktoren

Ureterosigmoideostomien führen zu einem nachweislich erhöhten Risiko für die Entstehung von Kolonkarzinomen. 15–30 Jahre nach diesem chirurgischen Eingriff wurde bei 5–10 % der Patienten ein Kolonkarzinom diagnostiziert. Typischerweise treten diese Tumoren distal der Implantationsstelle des Ureters im Colon sigmoideum auf, also dort, wo die Mucosa chronisch dem Faeces und dem Urin ausgesetzt ist [39].

Cholezystektomien und Gastrektomien sollen ebenfalls mit einem erhöhten Karzinomrisiko einhergehen. Der Pathomechanismus bei der Cholezystektomien wird der veränderten Gallensekretion und -zusammensetzung zugeschrieben [40].

Die Exposition auf radioaktive Strahlung (z. B. bei Therapie des Ovarialkarzinoms) erhöht das Rektumkarzinomrisiko.

1.1.3 Modell der Mehrschrittkanzerogenese kolorektaler Karzinome

Die Bildung eines Kolorektalkarzinoms erfolgt über verschiedene Zwischenstufen, die morphologisch und molekularbiologisch weitgehend charakterisiert sind. Nach einem Modell von Fearon, Vogelstein [41] und Kinzler lassen sich histopathologische Veränderungen der Akkumulierung bestimmter Genveränderung zuordnen (Fig. 2).

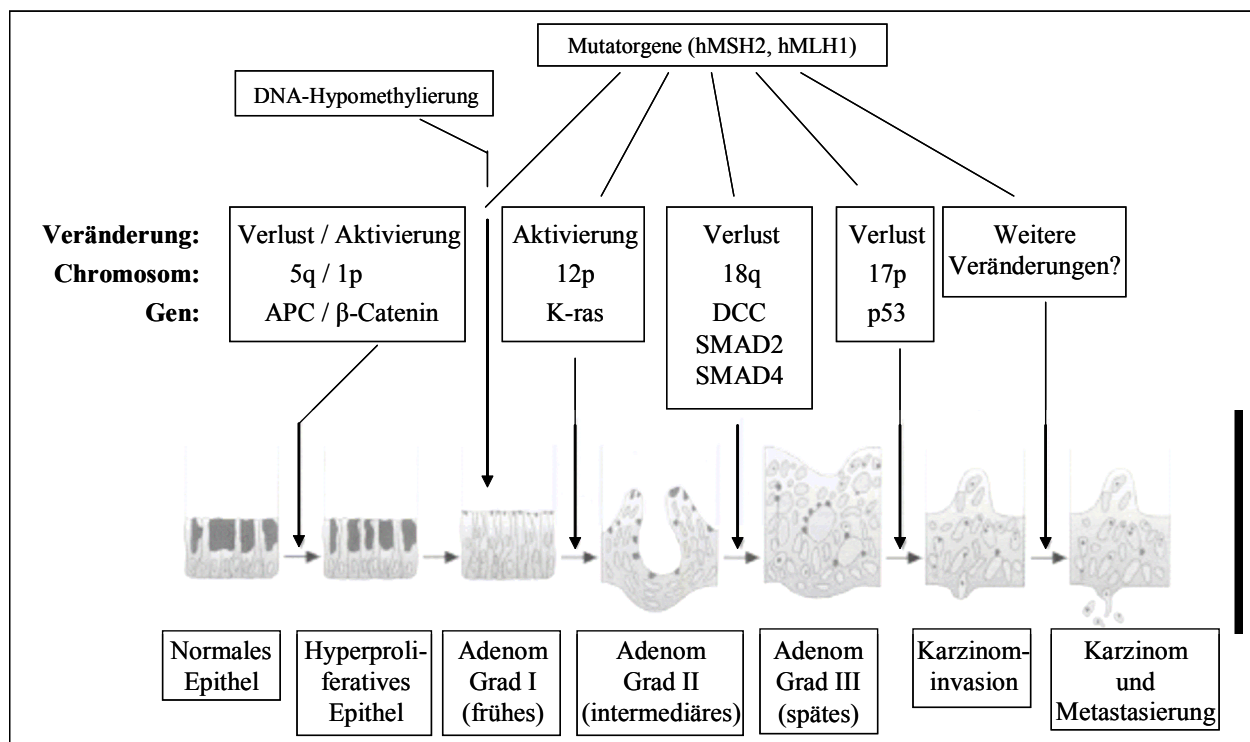


Fig. 2: Modell der Mehrschrittkanzerogenese kolorektaler Karzinome, modifiziert nach [42]

Aus normalem Kolonepithel entsteht durch Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen (APC, DCC/DPC4, p53) und durch die Aktivierung von Proto-Onkogenen (β-Catenin, K-ras) schrittweise ein metastasierender Tumor. Inaktivierende Mutationen in Genen des MMR-Systems, wie hMSH2 oder hMLH1, erhöhen dabei durch die resultierende genetische Instabilität die Gesamtmutationsrate.

In 80–85 % der sporadischen Kolonkarzinome ist das Tumorsuppressorgen APC mutiert [43, 44]. Für die Tumorentstehung müssen beide APC-Allele inaktiviert sein: 20–50 % der Darmtumore weisen einen Verlust des Chromosoms 5q auf, in dem das APC-Allel lokalisiert ist [45, 46]. In den anderen Fällen bewirken Mutationen im APC den vorzeitigen Translationsstop. Alternativ können Mutationen im β-Catenin-Gen die Tumorentstehung initiieren [47], was in 10 % der kolorektalen Tumore vorkommt. Das APC-Genprodukt und das β-Catenin sind Teile des gleichen sog. *wnt*-Signalweges. Die Mutation im APC oder im β-Catenin-Gen löst

Hyperproliferation der Epithelzellen aus, die zunächst zu Adenombildung führt, die über viele Jahre unbemerkt bleiben kann.

Eine der Zellen des entstandenen Polypen kann eine zweite Mutation erfahren, z. B. im Protoonkogen K-ras, was dieser Zelle einen weiteren Wachstumsvorteil verschafft und zur Bildung eines intermediären Adenoms führen kann. Der Verlust einer Kopie des Chromosoms 18q erfolgt in 73 % der kolorektalen Tumore und ist mit dem Übergang zum späten Adenom verbunden. Tumorsuppressorgene, wie DCC (*deleted in colorectal cancer*) [48], SMAD2/JV18-1 und SMAD4/DPC4 (*deleted in pancreatic cancer*) [49], sind in diesem Chromosom lokalisiert und wahrscheinlich an der Tumorprogression beteiligt. Die Umwandlung des adenomatösen Polypen in ein Karzinom ist zu 75 % mit der Inaktivierung von p53 durch Mutationen oder mit dem Verlust des Chromosoms 17p assoziiert. Weitere weniger gut charakterisierte genetische Veränderungen ermöglichen schließlich die Gewebeinvasion und die Metastasierung des Tumors.

1.2. Standardtherapie

Die etablierten Therapieformen des kolorektalen Karzinoms lassen sich nach ihrer Intention in kurativ, adjuvant und palliativ unterteilen [50].

1.2.1. Kurative Therapie

Die R0-Resektion (R0 = kein Residualtumor) des Tumors ist die einzige kurative Option beim kolorektalen Karzinom. Dementsprechend stellt der operative Eingriff die Grundlage der onkologischen Therapie dar, wobei eine kurativ intendierte Resektion des Tumors grundsätzlich auch bei metastasierten Tumoren möglich ist. So wird bei R0-Resektion von bis zu fünf Lebermetastasen oder aber bei mehr als fünf Lebermetastasen, wenn diese durch Lebersegmentresektion komplett zu entfernen sind, von einer 5-Jahres-Überlebensrate von 20–40 % berichtet [51].

1.2.2. Adjuvante Therapie

Eine adjuvante Therapie nach R0-Resektion des Primärtumors wird im Stadium UICC III als Standard empfohlen und auch für das Stadium UICC II diskutiert. Verschiedene Kombinationsschemata werden eingesetzt, wobei 5-FU (5-Fluoruracil) eine zentrale Rolle spielt. 5-FU gehört zur Substanzklasse der Pyrimidinanaloga. Dabei beruht die zytotoxische Wirkung auf zwei Mechanismen: Zum einen bildet 5-FU (in der Zelle als aktiviertes 5-Fluorodesoxyuridinmonophosphat) einen Komplex mit der Thymidilat-Synthetase und

verhindert so die Bildung von Thymidinnucleotiden. Zum anderen wird 5-FU als „falsches“ Nucleotid in die RNA und die DNA eingebaut [52].

Postoperativ als adjuvante Maßnahme bei Kolonkarzinomen im UICC-Stadium III gibt man 5-FU und Folinsäure für 6 Monate i. v. (MAYO-Klinik-Schema). Gegenwärtig wird 5-FU mit Irinotectan oder Oxaliplatin kombiniert. Die Chemotherapie verringert die Rezidivrate insgesamt um ca. 40 % [10].

Postoperativ als adjuvante Maßnahme bei Rektumkarzinomen im UICC-Stadium II und III wird eine kombinierte Radio-Chemotherapie mit 5-FU und Folinsäure für 6 Monate und 50 Gy Bestrahlung empfohlen. Gegebenenfalls wird auch eine präoperative (neoadjuvante) Radio-Chemotherapie bis zu 4 Wochen vor der Operation zur Tumorverkleinerung und zum Erreichen der Operabilität (*down-staging*) veranlasst [10].

1.2.3. Palliative Therapie

Das Ziel der palliativen Therapie ist die Verbesserung der Lebensqualität des Patienten sowie eine Verlängerung der Lebenszeit. Die palliative Chemotherapie beruht ebenfalls hauptsächlich auf 5-Fluoruracil. Diese besteht aus der Kombination von 5-FU und Folinsäure allein oder mit Irinotecan oder Oxaliplatin. Verschiedene Schemata wurden hierfür erprobt. Während sich die mit 5-FU erreichbare Ansprechrate von 15 % [53] teilweise verbessern ließ, konnte eine signifikante Verlängerung der 5-JÜR dadurch bisher nicht erreicht werden.

Bei isolierter Lebermetastasierung kann durch die direkte Gabe von 5-FU und Folinsäure in die A. hepatica eine höhere Remissionsrate erzielt und die Überlebenszeit verlängert werden [54]. Die Therapie wird jedoch von Komplikationen durch den Katheter, durch die Pumpen- oder Portsysteme sowie durch besondere Toxizitäten bei regionaler Applikation limitiert.

1.2.4. Neuere Chemotherapeutika

Um bei der chemotherapeutischen Behandlung des kolorektalen Karzinoms die Nebenwirkungen (Myelosuppression, Nausea, Hautausschlag, Alopezie) zu reduzieren, wurden weitere Substanzen, die die Thymidilat-Synthetase hemmen, entwickelt. Tegafur ist dabei eine Vorläufersubstanz, die im Körper zu 5-Fluoruracil umgewandelt wird. Diese wird zur Wirkungssteigerung in Kombination mit dem Dihydropyrimidin-Dehydrogenase-Inhibitor Uracil oral verabreicht. Mit dieser oralen Therapie konnten zwar Nebenwirkungen abgeschwächt werden, doch ergab sich keine verlängerte Überlebenszeit im Vergleich zur Standardchemotherapie [55]. Capecitabin ist ebenfalls ein oral verabreichter Wirkstoff, der auch zu 5-Fluoruracil metabolisiert wird. Dabei zeigte sich eine geringfügige Steigerung der Ansprechrate im Vergleich zu einer Therapie mit

5-Fluoruracil/Leucovorin [56]. Für den Thymidilat-Synthetase-Inhibitor Raltitrexed kann ebenfalls ein Wirkungsnachweis erbracht werden [57]. Raltitrexed war seltener mit gravierenden Stomatiden und Leukopenien assoziiert und stellt somit eine attraktive Alternative zur 5-FU/LV-Therapie dar [58, 59]. Außerdem gibt es Wirkstoffe zur Therapie des kolorektalen Karzinoms, die nicht zu der Klasse der Thymidilat-Synthetase-Inhibitoren zählen. Dazu gehört Oxaliplatin, das synergistische Effekte mit 5-Fluoruracil zeigt, aber auch als Einzelsubstanz wirksam ist [60] sowie der Topoisomerase-I-Hemmer Irinotecan.

1.2.4.1. Oxaliplatin

Oxaliplatin ist ein Platinderivat; seine Wirkung beruht auf Bildung von Querverbindungen (*cross links*) zwischen beiden DNA-Strängen, wodurch die DNA-Replikation gehemmt wird. Oxaliplatin unterscheidet sich von Cisplatin und Carboplatin insbesondere im deutlich günstigeren Toxizitätsprofil.

Oxaliplatin wird sowohl als Einzelsubstanz als auch in Kombination mit 5-FU beim fortgeschrittenen Kolorektalkarzinom angewandt. Als Monotherapie konnte bei 5-FU-refraktären Patienten eine Ansprechrate von 10 % und bei unbehandelten Patienten von 23 % erzielt werden [61]. Wegen des ausgeprägten Synergismus in Kombination mit 5-FU wurden bereits in der frühen klinischen Entwicklung überwiegend Kombinationsprotokolle untersucht. Die meisten klinischen Daten zur Kombination von Oxaliplatin und 5-FU sind von den Arbeitsgruppen von Lévi und De Gramont publiziert worden. Lévi entwickelte ein chronomoduliertes Applikationsprotokoll von 5-FU und Oxaliplatin. In mehreren Phase-II- und III-Studien konnten objektive Remissionsraten um 50 % und ein medianes Überleben von über 15 Monaten bei insgesamt relativ niedriger Toxizität erzielt werden. Die Gruppe um De Gramont entwickelte ein alle 14 Tage zu verabreichendes Kombinationsprotokoll aus Bolus-5-FU und protrahierter 5-FU-Infusion über 48 Stunden mit Oxaliplatin (sog. FOLFOX-Protokoll) und konnte ähnliche Remissionsraten erzielen, bei allerdings deutlich höherer Toxizität (Diarrhoe, Neurotoxizität) wie Lévi.

Eine interessante Eigenschaft von Oxaliplatin ist, dass die Substanz in der Lage ist, bei einem Anteil von 5-FU-refraktären Patienten die erworbene 5-FU-Resistenz zu durchbrechen. Klinisch konnte in mehreren Phase-II-Studien ein solcher Effekt (20–30 % objektive Remissionsraten bei Patienten mit dokumentierter Progression unter einer 5-FU-haltigen Therapie) nachgewiesen werden, wenn das bisher verwendete 5-FU-Protokoll beibehalten und mit Oxaliplatin ergänzt wurde [62].

1.2.4.2. Irinotecan (CPT-11)

Das Chemotherapeutikum Irinotecan (CPT-11; 7-Ethyl-10-[4-(1-Piperidino)-1-1-Piperidino]-Carboxyloxy-Camptothecin), ein semisynthetisches Derivat des natürlichen Alkaloids Camptothecin, ist ein Topoisomerase-I-(Topo I)-Inhibitor. Das CPT-11 wird durch die Carboxyesterase in der Leber zu seinem aktiven Metabolit SN-38 verstoffwechselt. Die Funktion der Topo I ist die Entwindung des DNA-Doppelstranges durch transiente Strangbrüche und anschließende Religation während der DNA-Replikation. SN-38 verhindert die Religationen der durch die Topo I hervorgerufenen transienten DNA-Strangbrüche. Das Zusammentreffen der DNA-Strangbrüche mit der sich fortbewegenden Replikationsgabel führt zu Doppelstrangbrüchen und zur akuten Zelltoxizität. In der vorliegenden Arbeit wurden morphologische und molekularbiologische Aspekte dieses Prozesses untersucht.

In Phase-II-Studien zeigten sich bei primär unbehandelten Patienten Ansprechraten von 15–22 % bzw. von 14–24 % bei 5-FU/LV-vorbehandelten Patienten [63]. Die Effektivität von Irinotecan bei 5-FU/LV-Resistenz konnte in kontrollierten Studien eindeutig gezeigt werden. CPT-11 wirkt mit 5-FU synergistisch und ist daher einer der effektivsten Ergänzungen für 5-FU. Die Responderrate zu 5-FU/Leukovorin (LV) beträgt 23 %, wohingegen die Responderrate zu der Kombination von CPT-11/5-FU/LV 41 % beträgt. Diese Dreier-Kombination wird gegenwärtig als „*first line*“ Standardchemotherapie für Patienten mit metastatischen kolorektalen Karzinomen empfohlen [64].

Hoffnungsvolle Therapieansätze für die Zukunft sind die Immun- und die Gentherapie. Sie befinden sich derzeit aber noch in frühen Forschungsstadien und werden nur innerhalb von wissenschaftlichen Studien an speziell ausgewählten Patienten erprobt.

2. Zelluläre und molekulare Antwort auf die Chemotherapie

Die Chemotherapeutika lösen Zellreaktionen aus, die sich auf die Proliferation von Tumorzellen und auf das Überleben des Patienten auswirken. Eine dieser Zellreaktionen ist der Zellzyklusarrest, der den Zellen ermöglicht, die beschädigte DNA zu reparieren. Eine zweite Zellantwort ist die Apoptose. Sie ist ein physiologisches Zelltodesprogramm (programmierter Zelltod), das durch DNA-Schädigung, aber auch während der Entwicklung ausgelöst wird [65–68]. Die dritte mit Zelltod verbundene Zellantwort ist die Nekrose. Man versteht darunter den provozierten Zelltod, der eine Entzündungsreaktion im umliegenden Gewebe zur Folge hat. Eine weitere Zellantwort auf die Chemotherapie ist die Seneszenz (Alterung). Als Seneszenz bezeichnet man das biologische Phänomen, dass die meisten Zellen von Wirbeltieren nach einer bestimmten Zahl von Zellteilungen in der Zellkultur ihr Wachstum einstellen. Die mitotische

Katastrophe ist eine fünfte Art von Zellantwort auf die Chemotherapie. Durch das Unvermögen, einen Zellzyklusarrest aufrechtzuerhalten, führen Zellen eine vorzeitige Mitose durch, die mit Zelltod endet. Die bekannten molekularen Mechanismen dieser unterschiedlichen Antworten werden in den folgenden Absätzen näher erläutert.

2.1. Die Rolle von p53

Das p53-Tumorsuppressor-Protein spielt eine Schlüsselrolle in der Regulation von Zellzyklus und Zelltod. Das p53-Protein ist auch an Zelldifferenzierungen, der DNA-Reparatur, der Seneszenz (Fig. 10) und der Angiogenese beteiligt [69]. Ungefähr die Hälfte menschlicher Tumore weisen eine Mutation in p53 auf [70]. Grund der erhöhten Prädisposition zur Tumorentwicklung in Abwesenheit von funktionsfähigem p53 ist das Überleben dieser defekten Zellen und die Akkumulation von Mutationen [71].

Wildtyp p53 (p53^{w^t}) ist ein labiles Protein mit einer kurzen Halbwertszeit. Eine Vielfalt von Stress-Signalen einschließlich DNA-Schädigung, Hypoxie, Nukleotidverlust, Virusinfektion und Hitzeschock können p53 aktivieren [72–74]. p53 steuert Signalwege, die letztlich zu Wachstumsarrest und/oder Apoptose führen [75, 76].

Die DNA-Schädigung und die daraus folgenden DNA-Strangbrüche lösen eine Stabilisation und eine Akkumulation des p53-Proteins aus. Ein wesentlicher Negativ-Modulator für diesen regulatorischen Prozess ist das Mdm-2-Protoonkogen, das transkriptionell über p53 induziert wird. Mdm-2 bindet p53 und ist für den p53-Abbau über den Ubiquitin-Protease-Weg verantwortlich. Die Bindung zwischen p53 und Mdm-2 kann durch die Phosphorylierung der Mdm-2-Bindungsregionen des p53-Proteins unterbunden werden. Diese Phosphorylierung und die resultierende p53-Akkumulation ist eine Antwort auf die DNA-Schädigung, die über die Kinasen ATM, ATR, Chk1 und Chk2 vermittelt wird (Fig. 3).

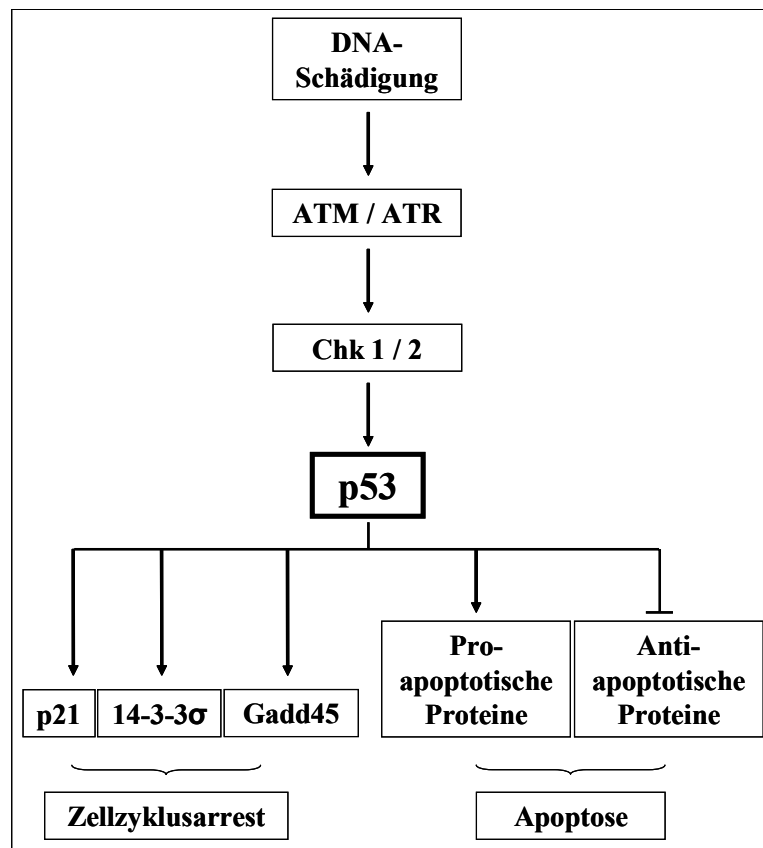


Fig. 3: *p53-abhängige Signalwege nach DNA-Schädigung, modifiziert nach [77]*

Nach DNA-Schädigung wird p53 durch ATM-, ATR-, Chk1- und Chk2-Kinase phosphoryliert und stabilisiert. Die Akkumulation von p53 führt zum Zellzyklusarrest und/oder zur Induktion von Apoptose [77].

Die durch DNA-Schädigung oder Zellstress induzierte Stabilisierung des p53-Proteins hat zwei wesentliche Effekte (Fig. 3). Einerseits induziert p53 über die Transaktivierung von p21, 14-3-3 σ , GADD45 und über die Suppression der Transkription von Cyclin B1- und CDK1-Genen einen G₁- (Fig. 5) und G₂/M-Arrest (Fig. 6). Andererseits induziert p53 über die Aktivierung der proapoptotischen Mitglieder der Bcl-2-Familie (Bax, Bak, Puma und Noxa) und über die Unterdrückung der antiapoptotischen Mitglieder der Bcl-2-Familie (Bcl-2, Bcl-X_L sowie von IAP (Survivin)) Apoptose. In einigen Fällen kann der p53-abhängige Apoptoseweg aktiviert werden, während in anderen Fällen der p53-abhängige Zellzyklusarrest induziert wird.

2.2. p53-vermittelter Zellzyklusarrest

Die Aktivierung von p53 kann zum Wachstumsarrest sowohl in der G₁- als auch in der G₂-Phase des Zellzyklus führen. Arrest in G₁ verhindert die Replikation von beschädigter DNA, während Arrest in G₂ die Chromosomentrennung verhindert. p53 kann auch die DNA-Replikation in der S-Phase arretieren, ein Vorgang, der üblicherweise den frühen G₁-Arrest maskiert [78]. Zudem wird p53 an dem mitotischen Kontrollpunkt beteiligt, der die Endoreduplikation von 4N-Zellen

verhindert [79]. Die Fähigkeit von $p53^{wt}$, Zellen an mehreren Kontrollpunkten zu arretieren, verhindert die Amplifikation von genetischen Veränderungen. Die Inaktivierung von $p53$ führt zu einem Verlust des G_1/S -Kontrollpunktes [80], zu einem verminderten G_2 -Arrest [81] und zur Aneuploidie und Polyploidie [79]. Die Zellzykluskontrollpunkte sind in den meisten Tumoren zum Teil oder vollkommen defekt.

2.2.1. G_1/S -Kontrollpunkt

Der G_1/S -Kontrollpunkt liegt in der späten G_1 -Phase vor der Verdopplung der DNA in der S-Phase. An diesem Kontrollpunkt wird überprüft, ob die DNA intakt und ob Faktoren, die für eine fehlerfreie Verdopplung der DNA in der S-Phase benötigt werden, in ausreichender Konzentration vorhanden sind. In diesem Kontrollpunkt erfolgt die Inaktivierung des CDK2/Cyclin-E-Komplexes [82, 83] durch $p21^{CIP1/WAF}$ (hier als $p21$ bezeichnet) und/oder $p27^{KIP1}$ (hier als $p27$ bezeichnet) (Fig. 4).

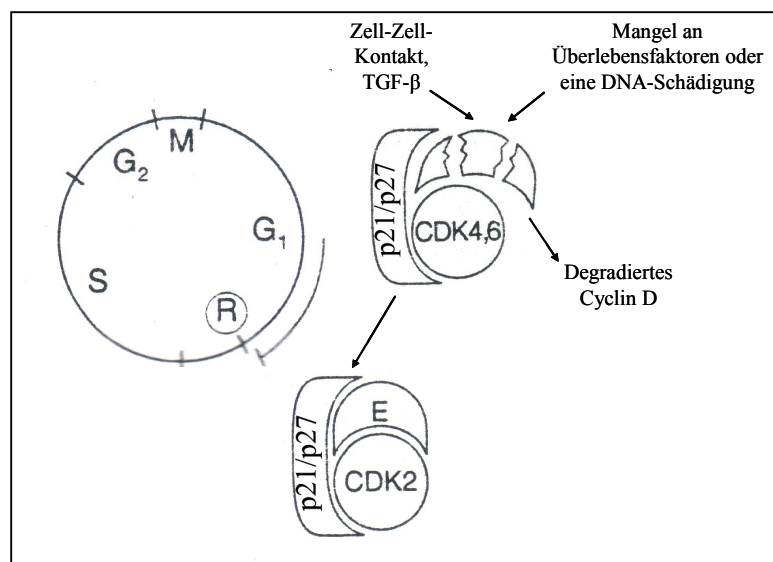


Fig. 4: *Regulation des Eintritts in die S-Phase durch Cyclin und Cyclin-Inhibitoren*
Zell-Zell-Kontakt, TGF- β , der Verlust von Überlebensfaktoren oder der Verlust des Substratkontakts haben eine Degradation von Cyclin D zur Folge. $p21$ bzw. $p27$ stehen dann zur Hemmung von CDK2/Cyclin-E-Komplexen zur Verfügung und lösen den G_1 -Arrest aus [84].

Eine lang anhaltende Induktion von $p21$ und $p27$ durch die Aktivierung des $p53$ Proteins (Fig. 5) ist für die Erhaltung des G_1 -Phasenarrestes verantwortlich [85].

2.2.2. $p53$ -vermittelter G_1 -Arrest

Das $p53$ -Zielgen, $p21$, ist das Schlüsselgen im G_1 -Arrest. Das $p21$ -Protein hemmt unterschiedliche Komplexe von Cyclin/Cyclin-abhängigen-Kinasen (CDKs) (Cyclin D/CDK4, 6 und Cyclin A, E/CDK2), die in der Lage sind, das Retinoblastoma Protein (pRb) zu

phosphorylieren, was zur Freisetzung des S-Phase-fördernden E2F-1-Transkriptionsfaktors führt [86] (Fig. 4). Zellen ohne p21 zeigen einen aberranten G₁-Arrest nach Bestrahlung [87].

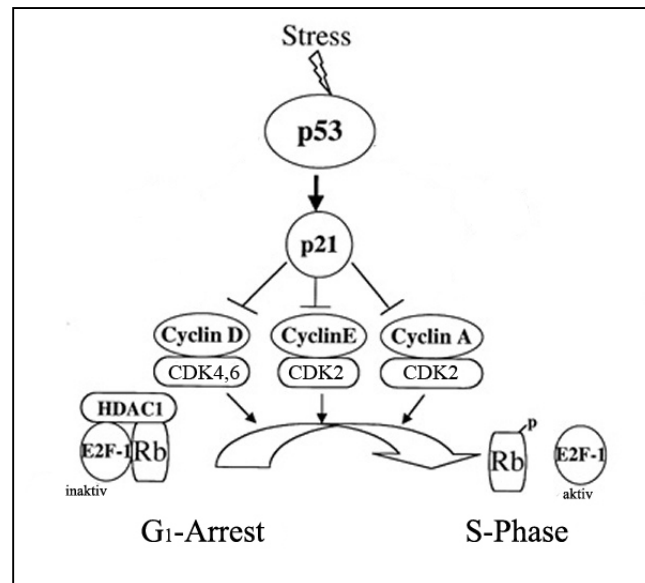


Fig. 5: Induktion von G₁-Arrest durch p53 [88]

Die Aktivierung von p21 hat eine zentrale Rolle für die Vermittlung des G₁-Arrestes durch die Inhibition von mehreren Cyclin/CDK-Komplexen. Als Resultat ist pRb nicht phosphoryliert, und es inaktiviert E2F-1 über die Rekrutierung von HDAC1 (Histondeacetylase).

2.2.3. G₂/M-Kontrollpunkt und p53-vermittelter G₂-Arrest

Der G₂/M-Kontrollpunkt liegt in der späten G₂-Phase. Am G₂/M-Kontrollpunkt wird verhindert, dass die Mitose vor Beendigung der DNA-Replikation beginnt oder sich eine weitere Verdopplung der DNA anschließt. Es verhindert auch die Mitose, wenn ein Replikationsfehler oder eine DNA-Schädigung vorhanden ist [89].

Am Ende der DNA-Replikation regulieren die Komplexe CDK1/Cyclin B1 und CDK1/Cyclin A den Verlauf der G₂- und M-Phase des Zellzyklus [90, 91]. Nach der Bindung von Cyclin B1 an CDK1 wird die Kinaseaktivität durch die CDK1-Phosphorylierung reguliert. Der Eintritt in die Mitose ist aufgrund der Aktivierung von CDK1 durch die Dephosphorylierung sowohl am Thr-14 als auch am Tyr-15 von der dualen spezifischen Phosphatase Cdc25C gewährleistet [92, 93]. Eine zelluläre Antwort auf die DNA-Schädigung ist die Aktivierung der ATM- (*ataxia telangiectasia mutated*) und der ATR- (*ataxia telangiectasia related*) Kinasen, die die Chk1- und Chk2-Kinasen phosphorylieren und somit aktivieren [94-96] (Fig. 5). Die beiden Kinasen Chk1 und Chk2 inaktivieren Cdc25C durch die Phosphorylierung am Ser-216 [97, 98]. Die Cdc25C-Phosphorylierung ermöglicht eine Bindung am 14-3-3σ-Protein [99, 100]. Das an das 14-3-3σ-Protein gebundene Cdc25C-Protein wird in das Zytoplasma transportiert und damit aus dem

Nukleus entfernt. CDK1 bleibt im phosphoryliertem Zustand im Nukleus inaktiv und die Zellen werden somit in der G₂-Phase arretiert [101] (Fig. 6).

Die gleichzeitige Aktivierung von p53 kann den G₂-Arrest aufrechterhalten. Dies wird von p21 vermittelt, indem es die Aktivität des CDK1/Cyclin B1-Komplexes hemmt (Fig. 6).

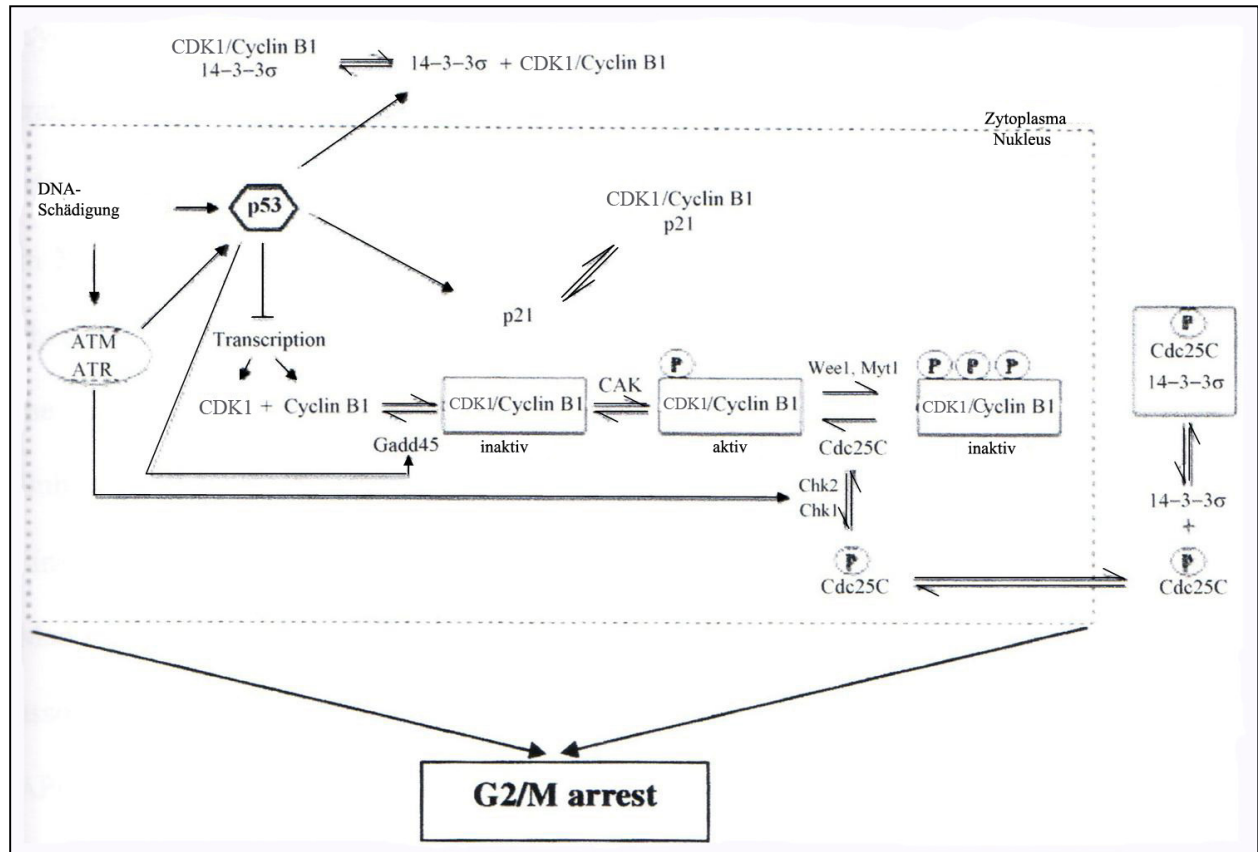


Fig. 6: Signale, die zur Induktion und der Aufrechterhaltung des DNA-schädigungsinduzierten G₂/M-Arrestes führen [101]

2.2.4. Mitotischer Kontrollpunkt

Der mitotische Kontrollpunkt gewährleistet, dass es während des Überganges von der Metaphase zur Anaphase zu einer gleichmäßigen Verteilung der Chromosomen auf die Tochterzellen kommt.

Dieser Kontrollpunkt inhibiert den Eintritt in die Anaphase. Erst wenn alle Chromosomen korrekt mit je einem Mikrotubuli von jedem Pol der bipolaren mitotischen Spindel verbunden sind, erfolgt die Trennung der Chromosomen. Der Kontakt zwischen Chromosom und Mikrotubuli findet in der Zentromer-Region des Chromosoms statt. Diese Region wird als Kinetochor bezeichnet, um das die Proteine konzentriert sind. Wenn keine Verbindung zu den Mikrotubuli besteht oder ein Mangel an Spannung im Kinetochor herrscht, sind in den Kinetochoren Sensorproteine vorhanden, wie MAD1, MAD2, MAD3, BUB1, BUB3, Survivin

und hMps1, welche die Aktivierung des APCs (*Anaphase Promoting Complex*) und damit den Abbau von mitotischen Regulatoren, wie Securin und Cyclin B, inhibieren. Erst die Dissoziation dieser Proteine von den Kinetochoren führt zur Initiierung der Anaphase [102] (Fig. 7).

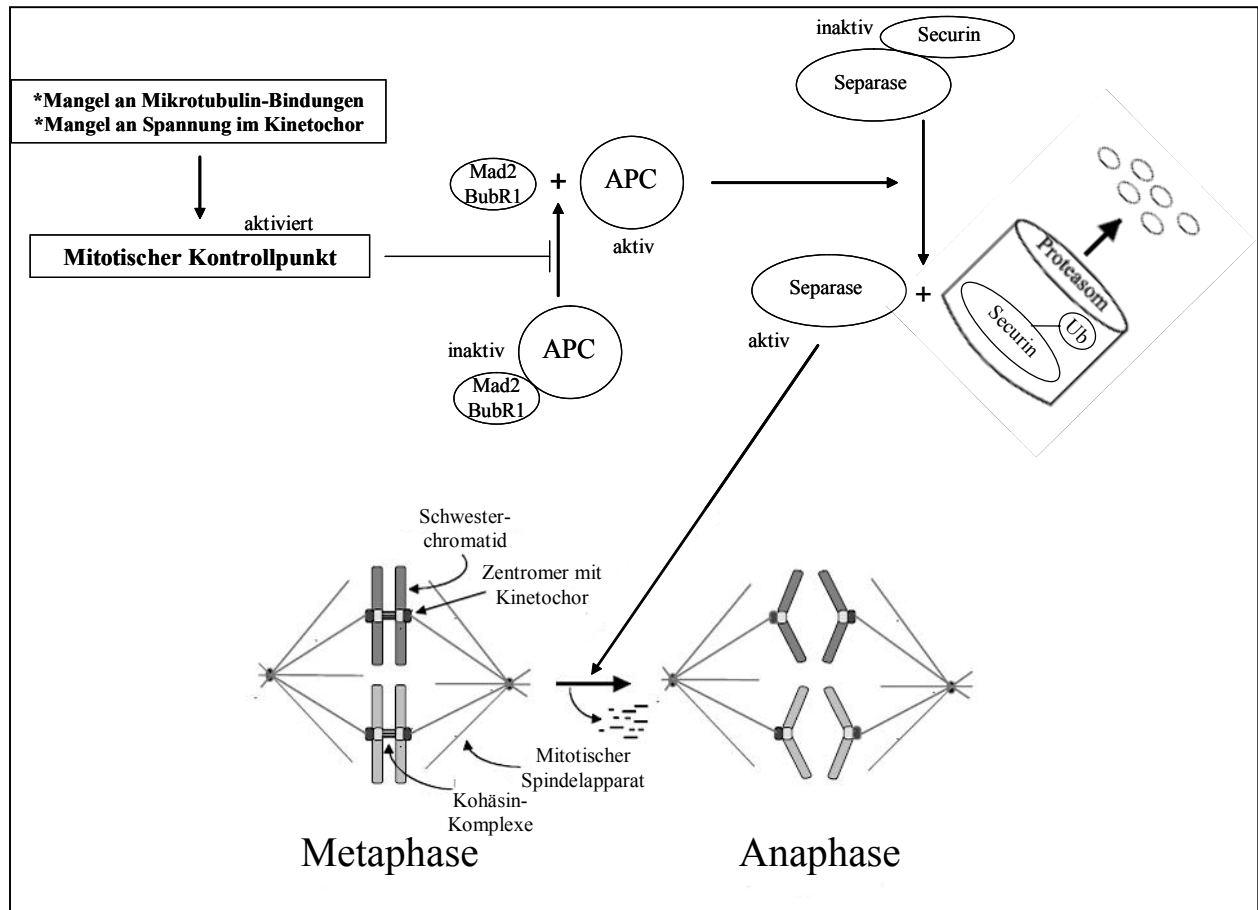


Fig. 7: Mitotischer Kontrollpunkt

Die Schwesterchromatide der Metaphasenchromosomen sind über den Kohäsinkomplex miteinander verbunden [103, 104]. Die Kohäsion der Metaphasenchromosomen ist auf die zentromere Region (Kinetochor) begrenzt. Sind alle Kinetochore der Chromosomen bipolar mit dem mitotischen Spindelapparat verbunden, wird der mitotische Kontrollpunkt aufgehoben. Die Kontrollpunkt-Komponenten Mad2 bzw. BubR1 geben den APC-Komplex frei, der dann in der aktivierten Form die Securin-Polyubiquitinylierung vermittelt. Der Proteasom-vermittelte Abbau des ubiquitinylierten Securins hat die Aktivierung der Separase zur Folge. Die aktive Separase spaltet die SCC1 (*subunit of cohesion complex 1*, Kohäsinkomplexuntereinheit) und leitet somit die Anaphase ein [105]. In der Folge werden die Schwesterchromatide durch den mitotischen Spindelapparat zu den entgegengesetzten Spindelpolen gezogen.

Der Verlust der p53-Funktion führt zur chromosomalen Instabilität, abnormer Zentrosomduplikation und Aneuploidie. Dies deutet, dass p53 eine Rolle in der Kontrolle von Zentrosomduplikation und normaler chromosomaler Teilung spielt [79, 106, 107]. Obwohl der mitotische Kontrollpunkt p53-unabhängig ist, werden einige Reaktionen auf den mitotischen Spindelschaden von p53 beeinflusst [79, 108].

2.3. p53-vermittelte Apoptose

Die Apoptose wird durch charakteristische morphologische und biochemische Veränderungen definiert, darunter die Aktivierung von Cystein-Aspartyl-Proteasen (Caspasen). Es existieren zwei Signalwege, die zur Aktivierung der Effektor-Caspasen führen. Einer davon ist der extrinsische Weg (Fig. 8), der von den plasmamembranständigen Rezeptoren vermittelt wird, wie Fas, dem Todesrezeptor, auch als APO-1 oder CD95 bekannt. Fas ist ein transmembranärer Rezeptor, der zu der TNF (Tumor Nekrose Faktor)-Rezeptor Superfamilie gehört.

Der zweite, intrinsische (mitochondriale) Weg (Fig. 8) wird durch das Austreten von Cytochrom C aus dem Mitochondrium ausgelöst. Stress wie die DNA-Schädigung kann den intrinsischen Apoptoseweg aktivieren.

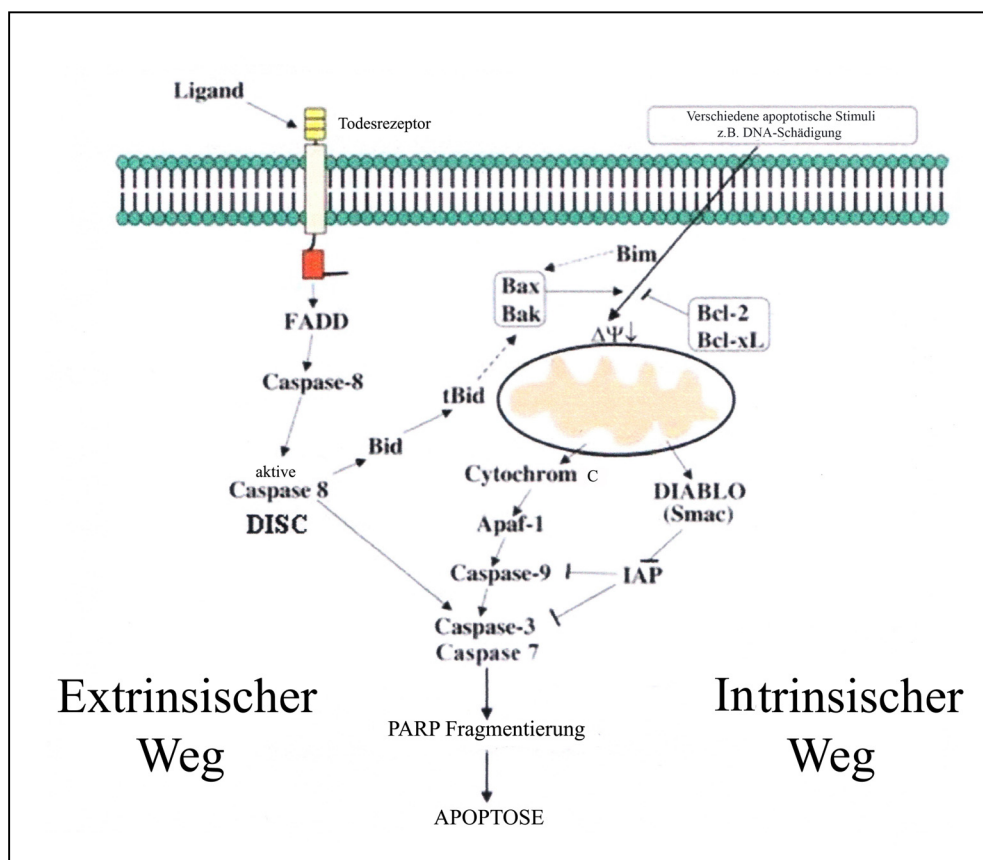


Fig. 8: Aktivierung des intrinsischen und extrinsischen Apoptosewegs

Im Gegensatz zur Nekrose läuft bei der Apoptose ein genetisch gesteuertes Programm ab. Es sind in der Regel nur einzelne Zellen betroffen und diese reagieren auf Signale von innen, auch wenn sich die Auslöser des Signals außerhalb der Zelle befinden. In der Anfangsphase schrumpfen Zellkern, Cytoplasma und Mitochondrien. Die Zellmembran bleibt jedoch unbeschädigt, sodass keine Entzündungsreaktion hervorgerufen wird. Infolge des sinkenden Zellvolumens verliert die Zelle ihren Kontakt zu den Nachbarzellen und tritt in eine als Zeiose

bezeichnete Phase ein. Während der Zeiose verdichtet sich das Chromatin und wird fragmentiert. Schließlich zerfällt die Zelle in membranumschlossene apoptotische Körperchen (*apoptotic bodies*), die von Nachbarzellen oder Makrophagen aufgenommen werden. Die resorbierten Vesikel werden durch Lysozyme biochemisch aufgeschlossen und auf diese Weise werden die Reste der abgestorbenen Zelle vollständig wiederverwendet.

Als Transkriptionsfaktor apoptosefördernder Gene (Bax, Bad, Bak, Bid, APAF-1, Puma, Noxa) sowie transkriptioneller Repressor von Überlebensgenen (Bcl-2, Bcl-X_L) kann p53 den programmierten Zelltod induzieren [109]. In etwa 60 % der Kolonkarzinome, die p53-Mutationen aufweisen, fehlen diese Apoptosesignale nach DNA-Schädigung. Die Inaktivierung des p53-Signalweges sowie der vor- und nachgeschalteten Regulatoren ist nicht nur für die Entstehung von Tumoren, sondern auch für die Entwicklung von Therapieresistenzbildungen von zentraler Bedeutung.

2.4. Nekrose

Zellen können durch Nekrose („Mord“) oder Apoptose („Selbstmord“) sterben. Bei der Nekrose gehen Zellen durch äußere Einflüsse, z. B. durch Verbrennungen, Vergiftungen, Strahlung oder mechanischen Verletzungen, zugrunde. Diese führen in größeren Bereichen des Gewebes zur Kondensation der Kernsubstanz und zum Anschwellen der Zellorganellen. Die Folge ist das Platzen der Zelle durch Schädigung der Plasmamembran, wodurch Stoffe aus dem Zytoplasma freigesetzt werden, die die Makrophagen anlocken und damit eine Entzündungsreaktion hervorrufen. Ein Beispiel für die Nekroseauslösung ist der Sonnenbrand. Die durch die UV-Strahlen der Sonne geschädigten Zellen schwellen an und platzen, und die mit der Entzündungsreaktion einhergehende Hautrötung ist als Sonnenbrand bekannt.

2.5. Seneszenz

Im Gegensatz zu einem vorübergehenden Zellzyklus-Stopp stellt zelluläre Seneszenz einen terminalen Wachstumsblock dar, der seneszente Zellen irreversibel aus dem Pool sich aktiv teilender Zellen eliminiert. Zugrunde liegender Mechanismus dieser „mitotischen Uhr“ ist die progressive Verkürzung und schrittweise Deprotektion der Chromosomenenden bei jeder Zellteilung [110, 111]. Phänotypisch von replikativer Seneszenz ununterscheidbar ist die akut induzierbare und daher vorzeitige Seneszenz (DNA-schädigungsinduzierte Seneszenz) (Fig. 9).

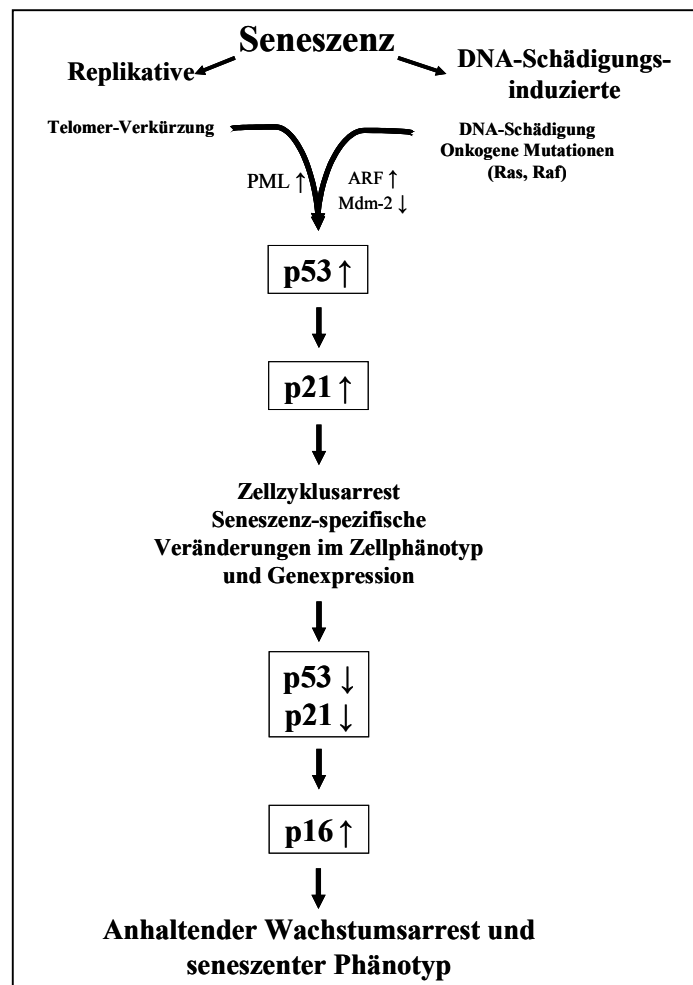


Fig. 9: Schlüsselereignisse während der replikativen und der DNA-schädigungsinduzierten Seneszenz [112]

Im Falle der replikativen Seneszenz reguliert PML (Promyelozyten-Leukämie-Genprodukt) p53 über die Azetylierung von p53 [113, 114]. Bei der DNA-schädigungsinduzierten Seneszenz wird p53 über die p14-Induzierung mit folgender Mdm-2-Degradierung stabilisiert. Aktiviertes p53 aktiviert p21, das Zellzyklusarrest in seneszenten Zellen induziert [115, 116]. Die Aktivierung von p53 und p21 in seneszenten Zellen ist nur transient. Das Proteinniveau von p53 und p21 sinkt nach der Etablierung des Wachstumsarrestes, wodurch p16 hochreguliert wird. p16 ist möglicherweise für den Erhalt des Wachstumsarrestes in seneszenten Zellen verantwortlich [116, 117].

Diese Telomer-unabhängige Form der Seneszenz kann durch zellulären Stress wie aktivierte Onkogene (Ras, Raf) oder DNA-Schädigung ausgelöst werden [118-122]. Da seneszente Fibroblasten ein charakteristisches Genexpressionsprofil aufweisen [123] und mit β -Galaktosidase mit saurem pH-Optimum (pH 6,0) (Seneszenz-assoziierte- β -Gal-Aktivität, SA- β -Gal) einen biochemischen Marker exprimieren, der in sich teilenden Zellen (und auch in Zellen, die in G_0 -Phase sind) nicht gefunden wird [124], wurde angenommen, dass DNA-schädigungsinduzierte Seneszenz ähnlich wie Apoptose ein spezifisches, genetisch kodiertes Stress-Programm darstellt. In Kultur bleiben seneszente Zellen metabolisch aktiv [124] und weisen ein großes Volumen und vakuolenreiches Zytoplasma auf. Während replikative Seneszenz als ein weithin akzeptierter biologischer Zustand des hohen Zellalters nach

ausgeschöpftem Teilungspotential gilt [125], wird das Konzept der DNA-schädigungsinduzierten Seneszenz kontrovers als Kultur-Artefakt mit unbekannter Signifikanz *in vivo* diskutiert [126]. Es wird zwar eine Akkumulation SA- β -Gal-positiver Zellen in Gewebeproben älterer Menschen gefunden [124], doch ist unklar, inwieweit seneszente Zellen durch Phagozytose rasch abgeräumt werden können. Zwar ist mittlerweile klar, dass p53 und die p16, Rb, ARF, p15 und das PML (Promyelozyten-Leukämie-Genprodukt) eine entscheidende Rolle in der genetischen Kontrolle von DNA-schädigungsinduzierter Seneszenz spielen [113, 127-130], doch sind Stimulus-Effektor-Kaskaden und Querverschaltungen analog zu Apoptose-Programmen für das „Seneszenz-Netzwerk“ bisher noch unbekannt.

Im Gegensatz zu proapoptischen mitogenen Onkogenen gibt es Onkogene, die bevorzugt akute Seneszenz als zelluläres Fehlerschutz-Programm auslösen. Onkogenes Ras gilt als Prototyp eines Onkogens mit seneszenten Koaktivität [118].

2.6. Mitotische Katastrophe

Die Bezeichnung „mitotische Katastrophe“ beschrieb ursprünglich die Zelltodart, bei der die Zellen durch eine Überproduktion der cyclinabhängigen Kinasen Cdc-2 in Hefen bzw. CDK1 in Säugerzellen zur Mitose gezwungen werden [131]. Inzwischen wird jeglicher Zelltod, der durch eine Mitoseaberration hervorgerufen wird, mit diesem Terminus beschrieben. Morphologisch tritt die mitotische Katastrophe durch die Bildung von aberranten Mitosen und Mikronukleationen in Erscheinung. In nichtveränderten Zellen wird die Schwelle von der G₂-Phase in die M-Phase der Mitose nur dann überschritten, wenn eine unbeschädigte DNA vorliegt. Dieses Überschreiten, das zur Auflösung der Kernmembran, zur Trennung der Zentrosomen, zur Spindelausbildung und zur Chromosomenkondensation führt, wird durch die Aktivierung des CDK1/Cyclin-Komplex bewerkstelligt [132-134]. Liegt jedoch ein Defekt des G₂-Kontrollpunktes vor, tritt die Zelle verfrüht in die M-Phase ein. Im Falle einer beschädigten bzw. noch nicht reparierten DNA führt dies schließlich zum Tod der Zelle durch die mitotische Katastrophe.

Zwei Unterarten von mitotischer Katastrophe können unterschieden werden. Erstens kann die mitotische Katastrophe die Zellen während der Metaphase auf einem p53-unabhängigen Weg töten, wenn die Kontrollpunktkinase Chk2 inhibiert ist. Zweitens kann die mitotische Katastrophe nach versagter Mitose und während der Aktivierung des Polyploidien-Kontrollpunktes in einem teilweise p53-abhängigen Weg auftreten [135]. Unter diesen Bedingungen sterben Zellen als Ergebnis der Aktivierung von Caspasen und der mitochondrialen Membranpermeabilisation, d. h. durch Apoptose. Durch die Verhinderung der mitotischen

Katastrophe über die Prävention der Aktivierung der Caspasen und/oder der mitochondrialen Schädigung wird gezeigt, dass diese Form von Zelltod ein Sonderfall der Apoptose darstellt. Die Suppression der mitotischen Katastrophe begünstigt die asymmetrische Teilung und die Entstehung von aneuploiden Zellen [135].

Die DNA-schädigungsinduzierte mitotische Katastrophe und Apoptose kann auch ungekoppelt vorkommen. Beispielsweise können Zellen eine mitotische Katastrophe erfahren und eine Aktivierung von Caspase-2 aufweisen [135], ohne dass DNA-Fragmentierung nachweisbar ist [136]. Apoptose kann über Bcl-2 [137] oder Caspase-9 [138] inhibiert werden, ohne Inhibition des mitotischen Zelltods. Es wurde deshalb argumentiert, dass die mitotische Katastrophe grundsätzlich verschieden von der Apoptose sei, weil die Suppression von Apoptose über die Überexpression von Bcl-2 nicht zur Hemmung, aber zur Verstärkung des Zelltodes durch die Formation von vermehrtem Mikronuklei führt [137].

Mitotische Katastrophe kann auch durch Fusion von mitotischen Zellen mit Interphase-Zellen in der S- oder G₂-Phase induziert werden als Folge einer vorzeitigen Induktion von Mitose vor Vollendung der S- oder G₂-Phase [135]. Die Überduplikation von Zentrosomen oder der Misserfolg von Zentrosomen, sich der Duplikation zu unterziehen, mit daraus folgendem Fehlen der Chromosomenteilung [139] kann ebenfalls zur mitotischen Katastrophe führen [135].

3. Cyclin D1 und hMps1

3.1. Die Rolle von Cyclin D1

Cyclin-D1-Protein in Verbindung mit CDK4 oder CDK6 phosphoryliert und inaktiviert das Rb-Protein und fördert damit die Passage durch die G₁-S-Phase des Zellzyklus (Fig. 5). Amplifikation oder Überexpression von Cyclin D1 spielt eine zentrale Rolle in der Entwicklung von menschlichen Tumoren einschließlich Parathyroidea-Adenome, Mammakarzinome, Kolonkarzinome, Lymphome, Melanome und Prostatakarzinome [140]. Von den drei D-Typ-Cyclinen, die jeweils an CDK binden können [141], ist die Cyclin-D1-Überexpression mit der menschlichen Tumorgenese und der zellulären Metastasenentwicklung verbunden [140]. Cyclin D1 zeigt auch CDK-unabhängige Funktionen. Es bindet an und reguliert die Aktivität von Transkriptionsfaktoren, Koaktivatoren und Korepressoren, die die Histon-Azetylierung und Deazetylierung regulieren. Die neueren Daten zeigen, dass Cyclin D1 den zellulären Metabolismus und die Fettzellendifferenzierung regulieren kann [140].

Viele Onkogene, u. a. mutiertes Ras [142] bzw. β -Catenin [143, 144], induzieren transkriptionell die Cyclin-D1-Expression. Viele Studien deuten an, dass Cyclin D1 ein potenzielles Zielgen für

die Therapie des Kolonkarzinoms sein könnte: Mäuse mit reduzierter Cyclin-D1-Expression weisen eine reduzierte Prädisposition zur gastrointestinalen Tumorgenese auf [145].

3.2. Die Rolle von hMps1 im mitotischen Kontrollpunkt

hMps1, auch bekannt als PYT/TTK, ist eine dual spezifische Tyrosin und Serin/Threonin-Kinase [146-149]. hMps1 ist mit APC (*Anaphase Promoting Complex*) assoziiert [150]; ihre Suppression löst eine vorzeitige Mitose aus [150, 151]. hMps1 ist in der Mitose hyperphosphoryliert und somit aktiv und dephosphoryliert, wenn die Zellen die Mitose verlassen [150]. Die Dephosphorylierung von hMps1 leitet den Eintritt der Zelle in die Anaphase ein. In den Zellen, die in Metaphase arretiert sind, bleibt hMps1 hyperphosphoryliert. Die Aktivierung vom mitotischen Kontrollpunkt führt zur Lokalisation von hMps1 im Kinetochor [150, 151]. hMps1 ist für die Rekrutierung und Retention von aktiven CENP-E (Kinesin-ähnliches Protein) am Kinetochor erforderlich, das für die Kinetochor-Assoziation mit MAD1 und MAD2 notwendig ist [152]. Eine Funktion für die nicht-Kinetochor-assozierte Form von hMps1 wurde postuliert. Die nichtassozierte hMps1-Kinase bindet mit APC/C [150]. Eine weitere Funktion von hMps1-Kinase ist die Zentrosomenduplikation [150, 153], obwohl diese Funktion kontrovers diskutiert wird [151, 154].