

1 Einleitung

1.1 Kolorektale Karzinome

1.1.1 Allgemeines

Das kolorektale Karzinom zählt zu den häufigsten Tumoren in der westlichen Welt. Bei der Inzidenz zeigen sich große Unterschiede mit niedrigen Karzinomraten in Ländern der Dritten Welt und hohen Inzidenzraten in den Zivilisationsländern (Parkin et al. 1992, Becker et al. 2002). In Deutschland stehen Kolonkarzinome bei Frauen an zweiter, bei Männern an dritter Stelle aller Malignome. Dabei zählt das kolorektale Karzinom zu den Erkrankungen des höheren Lebensalters. Das mittlere Erkrankungsalter der Männer beträgt 68,1 Jahre, Frauen erkranken mit 72,3 Jahren (Becker et al. 2002).

Im Vordergrund der Symptomatik stehen Änderungen der Stuhlgewohnheiten mit Blähungen, Schleimbeimengungen und Blutungen. Dabei kann ein chronischer Blutverlust zu einer Eisenmangelanämie und schneller Ermüdbarkeit führen. Weitere unspezifische Symptome sind Gewichtsverlust und Leistungsabfall. Im fortgeschrittenen Stadium können durch mechanische Obstruktionen akute Ileuszustände mit Schmerzen und Erbrechen hervorgerufen werden.

Im Rahmen des Screenings sollte neben einer rektalen Untersuchung ein Hämoccult-Test durchgeführt werden, mit dem geringe Blutbeimengungen im Stuhl nachgewiesen werden können. Ist dieser positiv, sollte mittels weiterer Untersuchungsverfahren (endoskopische Untersuchung des Kolons mit Entnahme von Gewebeprobe) dem Verdacht eines Tumorleidens nachgegangen werden. Nur die histologisch aufgearbeitete Biopsie aus dem Primärtumor ist beweisend für das Vorliegen eines kolorektalen Karzinoms (Becker et al. 2002).

Am häufigsten entstehen kolorektale Karzinome aus neoplastischen Polypen (Adenomen) über die sogenannte „Adenom-Karzinom-Sequenz“ die zum ersten Mal von Morson (1978) und Hill et al. (1978) beschrieben worden ist. Hierbei entwickelt sich das Karzinom in einem kontinuierlichen Übergang von Dysplasie in einem Adenom über einen zunehmenden Dysplasieschweregrad bis hin zum infiltrativen Karzinom. Die besondere Bedeutung liegt in dem hohen Entartungsrisiko, welches mit der Größe (>1cm), flachem Wachstum und dem Adenomtyp (villös > tubulovillös > tubulös) ansteigt.

Zu den Risikofaktoren, auf die im Folgenden genauer eingegangen werden soll, zählen unter anderem genetische Dispositionen, chronische entzündliche Darmerkrankungen und falsche Ernährungsgewohnheiten.

1.2 Risikofaktoren

1.2.1 Genetische Dispositionen

Zu den genetischen Dispositionen, die zu einem vermehrten Auftreten kolorektaler Karzinome führen, zählt die familiäre adenomatöse Polypose (FAP). Bei dieser autosomal-dominant vererbten Erkrankung entwickeln die Patienten hunderte bis tausende Polypen, die gleichmäßig über das gesamte Kolon und Rektum verteilt sind (Burt et al. 1988). Verursacht wird dieses Syndrom durch die Mutation eines Suppressorgens, dem Adenomatous Polyposis coli- Gen (APC-Gen), welches auf dem Chromosom 5 lokalisiert ist (Leppert et al. 1987, Bodmer et al. 1987). Die Wahrscheinlichkeit, dass eines dieser Adenome entartet und es zur Entstehung eines kolorektalen Karzinoms kommt, liegt bei 100%. Die FAP ist somit eine obligate Präkanzerose. Ein weiteres Syndrom, welches mit einem erhöhtem Kolonkarzinomrisiko einhergeht, ist das mit der FAP verwandte Gardner-Syndrom. Neben der hier auftretenden Kolonadenomatose kommt es bei dieser Erkrankung außerdem zu extrakolischen Manifestationen, wie Osteome, Epidermoidzysten, Fibrome und Zahnanlagestörungen (Gardner et al. 1953). Zuletzt sei als Beispiel für eine genetisch bedingte Erkrankung mit einem vermehrten Auftreten kolorektaler Karzinome das hereditäre nicht-polypöse Kolonkarzinom (HNPCC, Lynch-Syndrom) genannt. Bei diesem Syndrom kommt es zu Mutationen auf der DNA der sogenannten „mismatch-repair genes“ (MMR). Diese Gene identifizieren und korrigieren Fehler, die durch die DNA-Polymerase während der Replikation entstanden sind (Kolodner 1995). Die durch die Mutationen inaktivierten Gene sind nicht mehr in der Lage, fehlerhaft replizierte DNA zu reparieren. Fishel et al. (1993) und Leach et al. (1993) ist es gelungen, ein humanes Homolog (hMSH2) zu dem damals bereits bekannten bakteriellen MMR (MutS) auf dem Chromosom 2p zu identifizieren. Das war das erste Gen, bei dem eine Mutation in der Keimbahn einer Familie mit HNPCC nachgewiesen worden ist. Etwas später konnte ein Homolog des bakteriellen MutL-Gens (hMLH1) auf dem Chromosom 3q identifiziert werden (Papadopoulos et al. 1994). Die Mehrzahl der HNPCC kann heutzutage durch Mutationen dieser zwei Gene erklärt werden (Peltomaki et al. 1997).

1.2.2 Chronisch entzündliche Darmerkrankungen

Auch chronische entzündliche Darmerkrankungen, wie die Colitis ulcerosa und der Morbus Crohn, führen bei den Betroffenen zu einem häufigeren Auftreten von kolorektalen Karzinomen als bei der Normalbevölkerung (Potter 1999, Becker et al. 2002).

Die Colitis ulcerosa ist eine chronisch-remittierend verlaufende Entzündung unbekannter Ätiologie, die ihren Ausgang meist im Rektum nimmt und von dort aus ascendiert. Der Ursprung für die Entwicklung kolorektaler Karzinome scheint hierbei eine Mutation des Gens p53 zu sein (Brentnall et al. 1994). Entscheidend für die Entwicklung kolorektaler Karzinome ist bei dieser Erkrankung nicht die Entstehung eines Polypen, sondern der Verlust der regelrechten Zellzyklusfunktion (Potter 1999).

Beim Morbus Crohn handelt es sich um eine autoaggressive, chronisch-granulomatöse Entzündung des Intestinaltraktes. Hierbei kommt es zu Defekten der Darmschleimhaut, welche die ganze Darmwand erfassen können. Gleichzeitig wird der Gewebeschaden fortlaufend durch Epithelregeneration, Granulationsgewebe und Narbenbildung ausgebessert. (Riede et al. 1993). Das Entartungsrisiko ist bei dieser Erkrankung deutlich geringer, als bei der Colitis ulcerosa. Eine erhöhte Gefahr für die Entwicklung kolorektaler Karzinome scheint insbesondere bei einer Erstmanifestation des Morbus Crohn vor dem 30. Lebensjahr zu bestehen (Becker et al. 2002).

1.2.3 Ernährung

Ein weiterer wichtiger Risikofaktor, der zu einer vermehrten Entwicklung von Dickdarntumoren führt, scheint eine ballaststoffarme Ernährung zu sein. Vermutlich ist das ein Grund dafür, dass Kolonkarzinome in den westlichen Ländern, in denen die Nahrung relativ faserarm (ballaststoffarm) und fettreich ist, wesentlich häufiger auftreten, als in den sozioökonomisch weniger weit entwickelten Ländern (Parkin et al. 1992). Ballaststoffreiche Ernährung scheint eine protektive Wirkung bezüglich des Kolonkarzinomrisikos zu haben. Dafür sprechen verschiedene Studien, in denen gezeigt werden konnte, dass eine vermehrte Zufuhr von Früchten, Gemüse und Getreide zu einem geringeren Auftreten von Kolonadenomen (Giovannucci et al. 1992) und Kolonkarzinomen führt (Trock et al. 1990, Howe et al. 1992). Auch in verschiedenen Migrationsstudien wurde ein Zusammenhang zwischen den Essgewohnheiten einzelner Länder und dem Auftreten von Kolonkarzinomen angenommen. Thomas et al. (1987) untersuchten in ihrer Studie bei Migranten, die aus verschiedenen Ländern nach Amerika kamen, sowie bei deren Nachkommen die Inzidenz- und Mortalitätsraten diverser Neoplasien. In den ersten nachfolgenden Generationen der Einwanderer zeigte sich der größte Anstieg dieser Raten in bezug auf das kolorektale Karzinom. Grund dafür schien die Übernahme

der Ernährungsgewohnheiten des Gastlandes mit vermehrter Kalorien- und Gesamteiweißaufnahme sowie vermehrter Zufuhr von tierischem Protein, Fett und Cholesterin zu sein. Dafür spricht auch die Studie von Monroe et al. (2003), in der sich zeigte, dass es bei mexikanischen Emigranten nach Amerika innerhalb der ersten zwei Generationen zu einer Umstellung der Essgewohnheiten kam und gleichzeitig die Inzidenzraten für Kolonkarzinome anstiegen.

1.3 Östrogene

Seit ein paar Jahren wird die Rolle der Östrogene und deren Einfluss auf das Kolonkarzinomrisiko diskutiert. Der Begriff Östrogen leitet sich vom griechischen „oistros“ (Brunst) und „gennao“ (schaffen) ab, womit ausgesagt werden soll, dass es sich um „brunsterzeugende“ Stoffe handelt, die bei der Frau in der ersten Zyklushälfte die Funktion des Ovars ersetzen können. Östrogene sind Steroidhormone, die einerseits direkt aus den 17-Ketosteroiden, andererseits indirekt über das androgene Hormon Testosteron synthetisiert werden. Bildungsorte der Östrogene sind zum größten Teil die Ovarien. Ferner findet in geringen Mengen eine extragenitale Synthese in der Nebennierenrinde, während der Schwangerschaft in der Plazenta und in den Leydig-Zwischenzellen des Hodens statt. Zu den wichtigsten natürlichen Östrogenen zählen Östradiol, Östron und Östriol (Schmidt-Matthiesen et al. 1998).

Die biologische Wirkung der Östrogene beruht auf einer Steigerung der Proteinbiosynthese über die Stimulierung einer DNA-abhängigen RNA-Synthese. In den Zielorganen binden die Östrogene an spezifische, zytoplasmatische Rezeptoren und werden zum Zellkern transportiert. Über diesen Weg haben sie einen Einfluss auf die Entwicklung der weiblichen Geschlechtsorgane. Daneben haben Östrogene auch eine Wirkung auf extragenitale Bereiche. Sie beeinflussen unter anderem den Lipidstoffwechsel, die Durchblutung der Haut, die Psyche und das Knochensystem. Die Konzentration der Östrogene ändert sich erheblich im Verlauf des weiblichen Zyklus. Die Produktion wird von der Hypophyse über die Gonadotropine (FSH und LH) gesteuert. Nach der Menopause fällt die Östrogensynthese im weiblichen Körper stark ab und es kommt zu den typischen klimakterischen Beschwerden, wie Hitzewallung oder Depression. Weitere Folgen der endokrinen Umstellung sind Haut- und Schleimhautatrophien, Osteoporose, Arthropathien und Gefäßerkrankungen. Diese Beschwerden und Erkrankungen sind häufig ein Grund dafür, dass Frauen postmenopausal eine Hormonersatztherapie (HRT) in Anspruch nehmen (Schmidt-Matthiesen et al. 1998).

1.4 Östrogenrezeptoren

Östrogene wirken über Östrogenrezeptoren, die zur Familie der Nuklear-Hormon-Rezeptoren zählen. Dabei ist der Östrogenrezeptor der bisher einzige Steroidhormonrezeptor, bei dem mehrere Subtypen nachgewiesen worden sind (Mangelsdorf et al. 1995, Katzenellenbogen et al. 1996). Der erste Östrogenrezeptor, der von Greene et al. entdeckt worden ist (1986), heißt heute Östrogenrezeptor alpha ($ER\alpha$). Ende 1995 gelang es Kuiper et al. (1996) einen zweiten Östrogenrezeptor ($ER\beta$) aus Prostata- und Ovarialgewebe von Ratten zu klonen. Kurze Zeit später konnten die Human- (Mosselmann et al. 1996) und Maus homologe (Tremblay et al. 1997) identifiziert werden. Enmark et al. (1997) gelang es nachzuweisen, dass das humane $ER\beta$ Gen auf dem Chromosom 14q22-24 lokalisiert ist.

Bei den Östrogenrezeptoren handelt es sich um Ligand-aktivierte Transkriptionsfaktoren, die in Abwesenheit von Östrogenen in einem inaktiven Zustand als Multiproteinkomplex im Zellkern vorliegen. Diese Rezeptoren sind aus sogenannten Domänen aufgebaut; dazu zählen die zentrale DNA-Bindungsdomäne (DBD), die C-terminale Ligand-Bindungsdomäne (LBD) und die N-terminale Domäne (Delauney et al. 2000). Durch Bindung des Liganden (Östrogen oder Antiöstrogen) an die Ligand-Bindungsdomäne (LBD) kommt es zur Ausbildung von Rezeptorhomodimeren ($ER\alpha/ER\alpha$ oder $ER\beta/ER\beta$) (Kumar et al. 1988) bzw. Rezeptorheterodimeren ($ER\alpha/ER\beta$) (Cowley et al. 1997, Pace et al. 1997, Pettersson et al. 1997), die dann mit hoher Affinität an spezifische DNA-Sequenzen („estrogen response elements“, EREs) innerhalb der Regulatorregion des Östrogenzielgens binden. Über diesen „klassischen Weg“ wird die Gentranskription durch beide ER gleichermaßen beeinflusst. Sowohl über $ER\alpha$ als auch über $ER\beta$ bewirkt die Bindung von Östrogenen eine Aktivierung der Gentranskription, während die Bindung von Antiöstrogenen, wie Tamoxifen, zu einer Inhibition der Transkription führt (Paech et al. 1997).

Daneben gibt es noch einen „nichtklassischen Weg“, über den Östrogene ihre Zielgene regulieren können. Der genaue Mechanismus ist bisher unklar, aber es wird vermutet, dass Östrogenrezeptoren mit anderen Transkriptionsfaktoren (z.B. AP-1) interagieren und deren Wirkung dann über „promotor response elements“ vermittelt wird (Paech et al. 1997, Jackaka et al. 2001). Interessanterweise wird hier die Gentranskription über $ER\alpha$ anders beeinflusst, als über $ER\beta$. Bindet ein Ligand, ob Östrogen oder Antiöstrogen, an den $ER\alpha$ -AP1 Komplex, kommt es zu einer Aktivierung der Gentranskription. Bei Bindung von Antiöstrogen an den $ER\beta$ -AP1 Komplex wird ebenfalls die Transkription des Zielgens gesteigert. Dahingegen führt

die Bindung eines Östrogens an den ER β -AP1 Komplex zu einer Hemmung der Gentranskription (Paech et al. 1997). Daher wird vermutet, dass ER α und β über verschiedene Mechanismen reguliert werden und unterschiedliche Rollen in der Genregulation spielen, obwohl sie auch ähnliche funktionelle Charakteristika haben.

Es konnte gezeigt werden, dass die DBD beider Östrogenrezeptoren zu 96% identisch ist, während bei der LBD lediglich eine Homologie von 58% nachgewiesen werden konnte (Kuiper et al. 1996). Diese strukturellen Übereinstimmungen korrelieren auch mit der Entdeckung, dass beide Östrogenrezeptoren gleiche DNA-Bindungseigenschaften haben (Cowley et al. 1997, Pace et al. 1997, Pettersson et al. 1997) und den Liganden 17 β -Östradiol mit gleicher Affinität binden (Kuiper et al. 1997). Im Gegensatz dazu zeigten sich deutliche strukturelle Unterschiede zwischen den N-terminalen Domänen beider Östrogenrezeptoren (Delauney et al. 2000). Es wird vermutet, dass diese strukturellen Unterschiede eine Ursache für die funktionellen Differenzen beider Östrogenrezeptoren sind. So konnte, neben der Entdeckung der unterschiedlichen Beeinflussung der Gentranskription über AP1-Komplexe (Paech et al. 1997), in anderen Studien nachgewiesen werden, dass in einigen Zellen die durch 17 β -Östradiol stimulierte Transkription über den ER α stärker aktiviert wird, als über den ER β (Cowley et al. 1997, Pettersson et al. 1997).

1.5 Östrogene und Karzinome

In verschiedenen Studien ist angenommen worden, dass Östrogene das Kolonkarzinomrisiko vermindern (Xu et al. 1994, Singh et al. 1994, Fernandez et al. 1998, Paganini-Hill 1999, Slattery et al. 2001, Di Leo et al. 2001, Konstantinopoulos et al. 2003). Für diese Hypothese spricht zum einen, dass in Tiermodellen gezeigt werden konnte, dass männliche Ratten ein höheres Risiko haben, kolorektale Karzinome zu entwickeln als weibliche Tiere (Odagiri et al. 1985, Gershbein 1993, Ochiai et al. 1996). Zum anderen konnte nachgewiesen werden, dass Männer häufiger ein kolorektales Karzinom entwickeln als Frauen (Ries et al. 2000, DeCosse et al. 1993, Levi et al. 1991). Dieses geringere Karzinomrisiko bezieht sich jedoch nur auf Frauen in der Prämenopause. Postmenopausal hebt sich bei Frauen das Risiko, ein Kolonkarzinom zu entwickeln, auf das beim männlichen Geschlecht gegebene Niveau. Es konnte aber gezeigt werden, dass bei Frauen, die postmenopausal Hormone einnahmen, das Risiko für die Entwicklung kolorektaler Karzinome weitaus geringer ist, als bei Frauen die nie eine HRT in Anspruch genommen haben (Fernandez et al. 1998, Paganini-Hill 1999, Calle et al. 1995,

Newcomb et al. 1995, Kampman et al. 1997, Grodstein et al. 1998). Fernandez et al. (1998) wiesen in ihrer Studie nach, dass die orale Einnahme von Östrogenen das Risiko für die Entwicklung von Kolon- und Rektumkarzinomen reduziert (Kolonkarzinom: Odds Ratio (OR) = 0,63; Rektumkarzinom: OR = 0,66). Auch in der Studie von Newcomb et al. (1995) zeigte sich, dass postmenopausale Frauen mit einer HRT ein geringeres Kolonkarzinomrisiko haben, als diejenigen ohne eine HRT („HRT-users“: Relatives Risiko (RR) = 0,54). Calle et al. (1995) untersuchte Frauen, die aus 676526 weiblichen Teilnehmern der „Cancer Prevention Study II“ ausgewählt wurden, und fand heraus, dass eine HRT signifikant das Risiko für die Entwicklung bösartiger Dickdarntumoren mindert. Auch in Familien mit HNPCC scheint die protektive Wirkung der Östrogene eine Rolle zu spielen. Die Studie von Froggatt et al. (1999) zeigte, dass in Familien mit HNPCC das Risiko, an einem kolorektalen Karzinom zu erkranken, bei Frauen signifikant niedriger ist ($p < 0,01$) als bei Männern. Ebenso konnte ein protektiver Östrogeneffekt bei Patienten mit FAP nachgewiesen werden (Church et al 2000, Giardiello et al. 2005).

Der genaue Mechanismus der protektiven Wirkung einer HRT ist bisher unklar. Eine angenommene Wirkungsweise basiert auf der „Gallensäure-Hypothese“. Diese Hypothese besagt, dass Gallensäuren einen karzinogenen und trophischen Effekt auf das Kolonepithel haben (Breuer et al. 1985, Bayerdorffer et al. 1995). Schwangerschaften und exogene Östrogene sollen die Konzentration dieser potenziellen Karzinogene reduzieren (Nanda et al. 1999). Dafür spricht, dass Subgruppen in der Bevölkerung mit einer niedrigen Schwangerschaftsrate, wie zum Beispiel Nonnen, eine höhere Inzidenz an Kolonkarzinomen aufweisen, als Bevölkerungsgruppen mit einer hohen Schwangerschaftsrate (Fraumeni et al. 1969). Des Weiteren haben andere Studien gezeigt, dass das Kolonkarzinomrisiko um so geringer ist, je mehr Schwangerschaften eine Frau ausgetragen hat (Weiss et al. 1981, Potter et al. 1983, Peters et al. 1990).

Ein weiterer möglicher molekularer Mechanismus, der für eine protektive Wirkung der Östrogene spricht, ist von Issa et al. (1994) vorgeschlagen worden. Die Forscher entdeckten bei der Analyse von 26 Kolonkarzinomen veränderte Methylierungsmuster des Östrogenrezeptor-Gens. Die gleichen Veränderungen konnten bei 12 adenomatösen Polypen nachgewiesen werden. Die Autoren dieser Studie vermuteten, dass diese veränderte Methylierung zu einer Inaktivierung der Östrogenrezeptoren führt und es somit zu unkontrolliertem Zellwachstum kommt.

Qiu et al. (2002) vermuteten in ihrer Studie, dass Östrogene in Kolonzellen über den Östrogenrezeptor beta Apoptose induzieren. Sie sahen hier den Grund für die Reduktion des Kolonkarzinomsrisikos durch eine postmenopausale Hormoneinnahme.

Enmark et al. (1997) untersuchten in ihrer Studie die Verteilung des humanen ER β in verschiedenen Geweben. Mittels in situ Hybridisierung wiesen sie eine hohe ER β Expression in der Magenmukosa, dem Duodenum, Kolon und Rektum nach. In der Arbeit von Campbell-Thompson et al. (2001) wurde bei 23 von 26 Patienten mit einem Kolonkarzinom in Gewebeproben aus der histologisch unauffälligen Kolonmukosa eine relativ hohe ER β mRNA Expression nachgewiesen, während die Expression der ER α mRNA in der normalen Kolonschleimhaut der gleichen Patienten wesentlich geringer war. Auch die Studie von Foley et al. (2000) zeigte, dass der ER β in humanem Kolongewebe stärker exprimiert wird, als der ER α . Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass der ER β der entscheidende Faktor für die Vermittlung der Östrogenwirkung in kolorektalem Gewebe ist.

Des Weiteren konnte in Tumoren des Mamma-, Prostata-, Ovarial- und Kolongewebes (Foley et al. 2000, Campbell-Thompson et al. 2001, Horvath et al. 2001, Roger et al. 2001) eine Reduktion des ER β im Vergleich zum morphologisch unauffälligen Gewebe nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse führten die Forscher zu der Annahme, dass der ER β eine wichtige Rolle als potentieller Tumorsupressor spielt und dass der Verlust dieses Rezeptors zu unkontrollierter Proliferation und maligner Transformation in den genannten Geweben führt.