

Diplomarbeit

**Assoziation von Vitamin-D-Rezeptor-Genvarianten mit
der Prognose des Kolonkarzinoms**

eingereicht von

Melanie Weissmüller

Mat.Nr.: 0313156

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Univ.-Klinik für Innere Medizin,

Klinische Abteilung für Onkologie

unter der Anleitung von

Ass. Dr. Joanna Szkandera

und Priv.-Doz. OA Dr. Armin Gerger

Meinem Papa

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 30.5.2011

Melanie Weissmüller

Danksagungen

Zuallererst möchte ich Frau Ass. Dr. Joanna Szkandera für die einfach perfekte Betreuung meiner Diplomarbeit danken. Ohne ihre Geduld und die tatkräftige Unterstützung während der gesamten Zeit, wäre die Verwirklichung dieses Projekts unmöglich gewesen. Meinem Zweitbetreuer, Herrn Priv.-Doz. OA Dr. Armin Gerger, möchte ich ebenso meinen herzlichen Dank aussprechen.

Ein riesengroßes Dankeschön gebührt meiner Familie, allen voran jedoch meiner Mama, für die enorme finanzielle Stütze in den letzten Jahren und das Begleiten durch all meine Lebenslagen...

Auch möchte ich an dieser Stelle meiner lieben Tante Rosina danken, die mir nicht nur auf Grund ihres eifrigen Korrigierens eine Wahnsinns-Hilfe war!

Meinem geliebten Berni bin ich unheimlich dankbar, für die großartige Unterstützung, vor allem im letzten Jahr - für die Sonnenstrahlen in den dunklen Stunden und die ungeheuere Motivation fürs Verwirklichen meiner Ziele...

Außerdem danke ich all meinen Freunden, die stets für mich da sind und mich wohl auch zu dem gemacht haben, was ich bin.

Tja vielen, vielen Dank euch allen!!!!

Zusammenfassung

Hintergrund: Trotz der signifikanten Fortschritte in Bezug auf Tumorfrüherkennung und Therapiemaßnahmen, stellen kolorektale Karzinome in Österreich mit einer Inzidenz von rund 29/100.000 EinwohnerInnen pro Jahr nach wie vor eine der häufigsten Todesursachen dar. Rezente Forschungsergebnisse zufolge spielen Keimbahnpolymorphismen eine immer größere Rolle in der Tumorentstehung und Rezidivierung und stehen daher im Brennpunkt der Krebsforschung. Der Vitamin-D-Rezeptor (VDR) beeinflusst unterschiedliche biologische Prozesse wie Zellwachstum, Differenzierung und Metastasierung. Polymorphismen des VDR-Gens konnten bereits mit einer veränderten Transkriptionsaktivität und mRNA-Stabilität in Verbindung gebracht werden. Im Rahmen dieses Projektes untersuchten wir den Einfluss der fünf VDR-Genvarianten *rs2228570*, *rs1544410*, *rs7975232*, *rs731236* und *rs2238136* auf die Prognose von Kolonkarzinomen.

PatientInnen und Methoden: 200 PatientInnen mit einem histologisch verifizierten Kolonkarzinom im klinischen Stadium II und III wurden mittels TaqMan genotypisiert. Die Genotypen jedes einzelnen Polymorphismus wurden auf eine mögliche Assoziation mit dem Zeitpunkt des Wiederauftretes eines Tumorrezidivs (TTR, time to recurrence) unter Verwendung der univariaten und multivariaten Cox-Regressions-Analyse getestet.

Ergebnisse: Zwischen den *VDR-rs2228570*-, *VDR-rs1544410*-, *VDR-rs7975232*-, *VDR-rs731236*- und *VDR-rs2238136*-Polymorphismen und der TTR konnte bei den KolonkarzinompatientInnen in den Stadien II und III in der univariaten und multivariaten Cox-Regressions-Analyse kein Zusammenhang gezeigt werden. Allerdings ließ sich in der univariaten Cox-Regressions-Analyse von *VDR-rs731236* bei KolonkarzinompatientInnen im Stadium II eine statistisch nicht signifikante Tendenz hinsichtlich einer kürzeren TTR bei den PatientInnen mit zumindest einem C-Allel (61.9 vs 80.1 Monate; HR 1,36; 95% CI, 0,70 - 2,65; $p = 0,09$) beobachten. Dieses Ergebnis konnte in der multivariaten Cox-Regressions-Analyse jedoch nicht bestätigt werden.

Conclusio: Unsere Studie konnte eine Relevanz der *rs2228570*-, *rs1544410*-, *rs7975232*- und *rs2238136*-Polymorphismen des VDR-Gens als unabhängige prognostische Marker für KolonkarzinompatientInnen im Stadium II und III nicht bestätigen, impliziert jedoch einen möglichen Zusammenhang zwischen VDR-*rs731236* und dem Auftreten eines Tumorrezidivs bei KolonkarzinompatientInnen im Stadium II.

Abstract

Background: Despite several improvements in early diagnosis and treatment modalities, colorectal cancer represents in Austria one of the most common causes of death with an incidence rate of 29/100.000 inhabitants per year. Recent evidence suggest that germline polymorphisms play an increasing role as genetic elements involved in the development and progression of cancer and are therefore in the focus of cancer research. The vitamin D receptor regulates various biological processes like cell growth, differentiation, and metastasis. Polymorphisms of the vitamin D receptor gene have been associated with an altered transcriptional activity and mRNA stability. Aim of this project was to investigate the effect of the vitamin D receptor gene variants *rs2228570*, *rs1544410*, *rs7975232*, *rs731236* and *rs2238136* on the prognosis of colon cancer.

Patients and methods: 200 patients with histologically confirmed colon carcinoma stage II and III were genotyped with TaqMan. Genotypes of each polymorphism were tested for association with TTR (time to recurrence) using univariate and multivariate Cox-regression analysis.

Results: No association was found between the *VDRrs2228570*, *VDRrs1544410*, *VDRrs7975232*, *VDRrs731236* and *VDRrs2238136* polymorphisms and the TTR in colon carcinoma patients stage II and III in the univariate and multivariate Cox-regression analysis. However, we observed a statistically not significant correlation between *VDRrs731236* in colon carcinoma patients stage II and a shorter TTR in patients with at least one C-allele (61.9 vs 80.1 months; HR 1,36; 95% CI, 0,70 - 2,65; $p = 0,09$) in the univariate Cox-regression analysis. This result could not be confirmed in the multivariate Cox-regression analysis.

Conclusion: Our study did not identify the *rs2228570*, *rs1544410*, *rs7975232* and *rs2238136* polymorphisms of the VDR-Gene as independent prognostic markers for stage II and III colon cancer patients, but implicates a possible association between *VDRrs731236* and tumour recurrence in stage II colon cancer patients.

Inhaltsverzeichnis

Danksagungen.....	IV
Zusammenfassung.....	V
Abstract.....	VII
Abkürzungen.....	X
Abbildungsverzeichnis.....	XI
Tabellenverzeichnis.....	XII
1 Einleitung.....	1
2 Allgemeine Grundlagen	4
2.1 Kolon.....	4
2.1.1 Anatomie.....	4
2.1.2 Histologie.....	7
2.1.3 Physiologie.....	7
2.2 Definition des Kolonkarzinoms.....	7
2.3 Epidemiologie.....	8
2.3.1 Prävalenz.....	8
2.3.2 Inzidenz.....	8
2.3.3 Mortalität.....	10
2.3.4 Verteilung.....	10
2.4 Ätiologie.....	11
2.4.1 Risikoerkrankungen.....	11
2.4.2 Ernährungs- und Umweltfaktoren.....	13
2.4.3 Genetische Prädisposition.....	16
2.5 Prävention.....	18
2.5.1 Screening.....	19
2.6 Morphologie.....	22
2.7 Stadieneinteilung.....	23
2.7.1 UICC-Klassifikation kolorektaler Karzinome.....	24
2.8 Metastasierung.....	26
2.8.1 Lymphogene Ausbreitung.....	26
2.8.2 Hämatogene Ausbreitung.....	26

2.9 Klinik.....	27
2.10 Diagnostik.....	28
2.10.1 Primärdiagnostik.....	28
2.10.2 Prätherapeutische Diagnostik.....	30
2.11 Therapie.....	31
2.11.1 Chirurgie.....	31
2.11.2 Strahlentherapie.....	37
2.11.3 Chemotherapie.....	37
2.12 Nachsorge.....	42
2.13 Prognose.....	43
2.13.1 Prognoseparameter.....	43
3 Vitamin-D-Rezeptor	46
3.1 Vitamin D.....	46
3.1.1 Vitamin-D-Biosynthese.....	46
3.2 Funktionen des Vitamin D.....	49
3.2.1 Biochemischer Wirkmechanismus.....	49
3.2.2 Wirkungen.....	49
3.2.3 Einflüsse während der Schwangerschaft.....	53
3.2.4 Beeinflussung der Karzinogenese.....	53
3.3 Vitamin-D-Mangel.....	53
3.4 Vitamin-D-Rezeptor.....	54
3.5 Vitamin-D-Rezeptor-Polymorphismen.....	54
3.5.1 Polymorphismen.....	54
4 Material und Methoden.....	58
4.1 PatientInnen.....	58
4.2 Ausgewählte Polymorphismen.....	58
4.3 Genotypisierung	60
4.3.1 TaqMan	61
4.4 Statistische Analyse.....	61
5 Ergebnisse.....	62
6 Diskussion.....	65
7 Literaturverzeichnis.....	69

Abkürzungen

5-FU/FA	5-Flourouracil/Folinsäure
AP	Alkalische Phosphatase
ASCO	American Society of Clinical Oncology
CA	Carbohydrate Antigen
CEA	Carcino-Embryonales-Antigen
CT	Computertomographie
DBP	Vitamin-D-bindendes Protein
DGVS	Deutsche Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EKG	Elektrokardiogramm
ESMO	European Society of Clinical Oncology
FAP	Familiäre Adenomatöse Polypose
FOBT	Fäkal okkultes Bluttest
Hb	Hämoglobin
HNPCC	Hereditäres, nicht polypöses kolorektales Karzinom
K-RAS	Kirsten rat sarcoma
LDH	Laktatdehydrogenase
MRT	Magnetresonanztomographie
mRNA	Messenger Ribonukleinsäure
NSAR	Nicht steroidale Antirheumatika
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PTH	Parathormon
SNP	Single Nukleotid Polymorphismus
TTR	Time to recurrence
UICC	Union for International Cancer Control
UTR	Untranslated region
UV	Ultraviolett
VDR	Vitamin-D-Rezeptor
WHO	Weltgesundheitsorganisation
ZNS	Zentralnervensystem

Abbildungsverzeichnis

1. Abbildung: Versorgung des Dickdarm, Lehrbuchfall nach Sobotta, 2004.....	5
2. Abbildung: Die häufigsten Tumorlokalisationen (1).....	8
3. Abbildung: Bösartige Neubildungen des Darms im Zeitverlauf (1).....	9
4. Abbildung: Schematische Darstellung der Adenomtypen (20).....	11
5. Abbildung: Adenom-Karzinom-Sequenz (21).....	12
6. Abbildung: Resektionslinien beim Aszendenskarzinom (37).....	32
7. Abbildung: Resektionslinien beim Karzinom der rechten Flexur (37).....	32
8. Abbildung: Resektionslinien beim Transversumkarzinom (37).....	33
9. Abbildung: Resektionslinien beim Deszendenskarzinom (37).....	33
10. Abbildung: Resektionslinien beim Sigmakarzinom (37).....	33
11. Abbildung: Vitamin-D-Biosynthese nach Löffler (52).....	47
12. Abbildung: TaqMan-Prinzip(76).....	61
13. Abbildung: TTR für VDR-rs731236 bei Kolonkarzinompatienten im klinischen Stadium II.....	64

Tabellenverzeichnis

1. Tabelle: Stadieneinteilung.....	24
2. Tabelle: TNM-Klassifikation kolorektaler Karzinome.....	25
3. Tabelle: Ausgewählte VDR-Gen-Polymorphismen.....	59
4. Tabelle: Ausgewählte VDR-Gen-Polymorphismen mit Vorwärts- und Rückwärtsprimern.....	60
5. Tabelle: Grundmerkmale; Studienkollektiv.....	62
6. Tabelle: Univariate und multivariate Cox-Regressions-Analyse der Polymorphismen für TTR bei KolonkarzinompatientInnen im klinischen Stadium II und III.....	63
7. Tabelle: Univariate und multivariate Cox-Regressions-Analyse von VDR- rs731236 für TTR bei KolonkarzinompatientInnen im klinischen Stadium II.....	64

1 Einleitung

Bösartige Tumoren (Karzinome) zählen weltweit zu den häufigsten Todesursachen, in Österreich liegen sie mit rund 25%, nach den Herz-Kreislauf-Erkrankungen, an zweiter Stelle (1). Das Kolonkarzinom ist vor allem in den Industrieländern sehr stark verbreitet und konnte in den letzten Jahrzehnten hinsichtlich Ätiologie weitgehend erforscht werden. Die Beschreibung der Adenom-Karzinom-Sequenz von Bert Vogelstein legten hierfür bedeutende Grundstücke (2).

Trotz einer Vielzahl von Verbesserungen hinsichtlich Frühdiagnostik und Behandlungsoptionen, stellt die Tumorrezidivierung nach kurativer Resektion ein großes Problem dar. Nach der operativen Tumorentfernung kann das Risiko des Wiederauftretens des Tumors anhand der bisher bekannten klinikopathologischen Faktoren abgeschätzt werden, welche jedoch häufig nicht das biologische Verhalten des Tumors und der einzelnen PatientInnen berücksichtigen und daher nur eine unzureichende Risikoabschätzung erlauben. Außerdem gilt es als allgemein akzeptiert, dass die unterschiedlichen Verläufe bei histologisch ähnlichen Tumoren auf molekularen Unterschieden beruhen.

Keimbahnpolymorphismen gelten als genetische Elemente, welche in die Entstehung und Progression von Tumorerkrankungen involviert sind. Die Determination von ebensolchen genetischen Markern für das Auftreten von Tumorrezidiven könnte als Hilfestellung zur genetischen Stratifizierung der KolonkarzinompatientInnen mit einem erhöhten Rezidivrisiko dienen und eine entscheidende Rolle bei der Selektion der PatientInnen, die von einer adjuvanten Therapie profitieren könnten, spielen. Man würde darüber hinaus den übrigen PatientInnen die Toxizität einer adjuvanten Chemotherapie ersparen.

Der Vorläufer des natürlichen Vitamin D, 7-Dehydrocholesterin, wird in der Haut durch UV-B-Strahlung in das Prävitamin D₃ umgewandelt. Dieses durchläuft dann

mehrere Transformationsschritte, ehe das Vitamin D und sein aktiver Metabolit 1,25-Dihydroxyvitamin D₃, ein Ligand des Vitamin-D-Rezeptors (VDR), entstehen.

Hohe Vitamin-D-Serumspiegel sind mit einer niedrigeren Inzidenz von Lungen-, Prostata-, Ovarial- und Kolonkarzinomen assoziiert (3). Die Behandlung mit dem aktiven Metaboliten 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ verminderte die Proliferation und erhöhte die Differenzierung in der humanen HT-29 Kolonkarzinom-Zelllinie (4).

Der VDR ermöglicht den biochemischen Wirkmechanismus von Vitamin D in unserem Körper und wird an einer Vielzahl von unterschiedlichen Zellarten, unter anderem auch den Kolonkarzinomzellen, exprimiert (5). Den längst erforschten Funktionen im Kalzium- und Phosphathaushalt folgten bereits unzählige andere Wirkungen.

Er stellt außerdem einen wichtiger Faktor bei der Transkription von Genen dar, die bei Zellwachstum, Differenzierung und Metastasierung eine große Rolle spielen. Polymorphismen des VDR-Gens konnten bereits mit chronischen Erkrankungen wie rheumatoider Arthritis und Osteoporose als auch mit der Entstehung und Prognose von unterschiedlichen Karzinomarten in Verbindung gebracht werden (6,7). Einige von ihnen wie *VDR-rs2228570*, *VDR-rs1544410*, *VDR-rs7975232*, *VDR-rs731236* und *VDR-rs2238136*, beeinflussen die Transkriptionsaktivität, die VDR-Expression im Darm, die mRNA-Stabilität und die Höhe der 1,25(OH)₂-D₃-Spiegel (8,9,10). Auch bei kolorektalen Karzinomen konnte eine Assoziation zwischen bestimmten Genvarianten des VDR und der Karzinomentstehung gezeigt werden (11).

Es gibt bisher jedoch nur sehr wenige Daten über den Einfluss der VDR-Polymorphismen auf das Auftreten von Tumorrezidiven beim Kolonkarzinom.

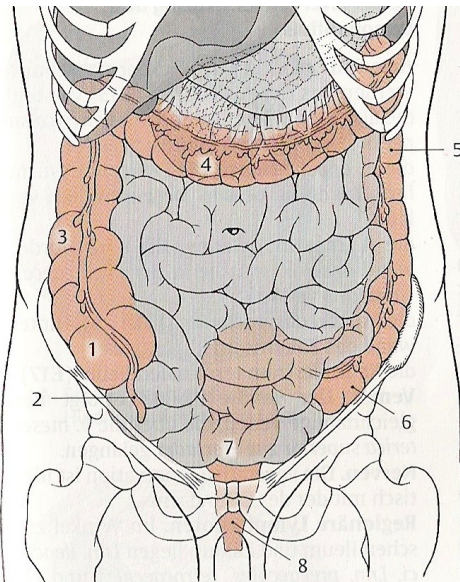
Ziel dieses Projekts war die Klärung einer möglichen Assoziation der fünf Vitamin-D-Rezeptor-Genvarianten *rs2228570*, *rs1544410*, *rs7975232*, *rs731236* und *rs2238136* bei KolonkarzinompatientInnen in Bezug auf ihren prognostischen Wert für Rezidivierung und Metastasierung.

2 Allgemeine Grundlagen

2.1 Kolon

2.1.1 Anatomie

Der Dickdarm (Intestinum Crassum) ist ca. 1,5 m lang, sein Durchmesser, rund 5 bis 8 cm, variiert sehr stark je nach Kontraktions- und Füllungszustand. Im Unterbauch gelegen, rahmt er das Dünndarmkonvolut regelrecht ein und gliedert sich in seine Abschnitte:



- 1,2.) Blinddarm mit Wurmfortsatz, Caecum mit Appendix vermiformis
- 3.) Aufsteigender Grimmdarm, Colon ascendens
- 4.) Querer Grimmdarm, Colon transversum
- 5.) Absteigender Grimmdarm, Colon descendens
- 6.) S-förmiger Grimmdarm, Colon sigmoideum

1. Abbildung: Dickdarmabschnitte, Lage (13)

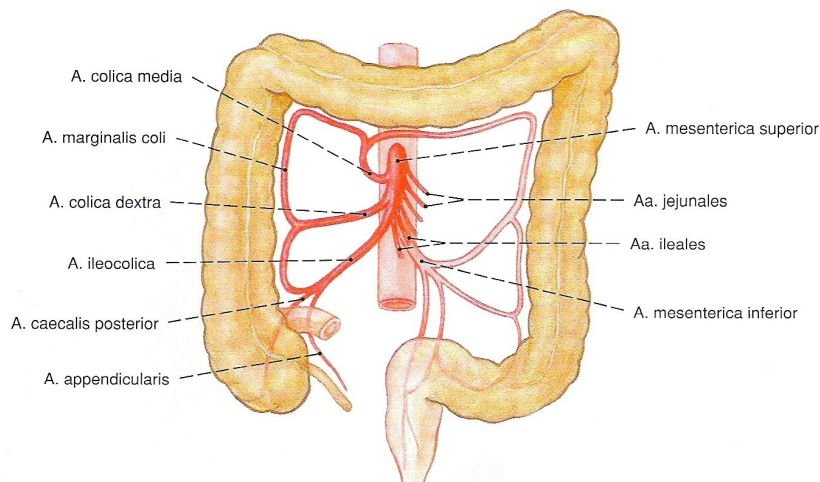
Das untere Ende des Darmrohres, der Mastdarm (Rectum, siehe 1. Abb., Nr.7) liegt im kleinen Becken und ist von Bauchfell (Peritoneum) überzogen.

Die Entwicklung aller Dickdarmteile haben ihren Ursprung aus dem Entoderm (12,13).

Am Übergang vom letzten Dünndarmabschnitt ins Caecum liegt die Bauhin-Klappe, Valvula ileocaecalis. Sie bildet den Abschluss des bakteriellen Milieus, ebenso kann der Darminhalt nicht zurück ins terminale Ileum fließen (12).

2.1.1.1 Gefäßversorgung

Die Gefäßversorgung des gesamten Dickdarms wird von Abkömmlingen der aus der Aorta stammenden Arteria mesenterica superior und der Arteria mesenterica inferior bewerkstelligt. Die A. mesenterica sup. gibt ihrerseits drei Hauptstämme ab, die sich wiederum aufzweigen und das Caecum, Colon ascendens und Colon transversum versorgen.



1. Abbildung: Versorgung des Dickdarm, Lehrbuchfall nach Sobotta, 2004

Ihrem Abgang aus der A. mesenterica sup. nach kennt man die:

- A. ileocolica; zur Ileozäkalregion, zerfällt in die A. caecalis anterior und posterior, aus welcher meist die A. appendicularis entspringt; aus R. colicus und R. ilealis, der mit Aa. ileales anastomosiert
- A. colica dextra; zum Colon ascendens, Anastomose mit dem R. colicus der A. ileocolica und A. colica media
- A. colica media; zum Colon transversum bis zur Flexura coli sinistra, Anastomose mit A. colica dextra und A. colica sinistra.

Im Bereich der linken Kolonflexur besteht eine Anastomose zwischen der A. mes. sup. und der A. mes. inf. (Riolan-Anastomose).

Die Äste der A. mesenterica inf.:

- A. colica sinistra; zum Colon descendens, Anastomose mit A. colica media und Aa. sigmoideae
- Aa. sigmoideae
- A. rectalis superior; Anastomose mit A. rectalis media und inferior, durch Ramus sigmoideus mit Aa. sigmoideae.

Die Dickdarmarterien schließen sich in Darmnähe zu einem sog. Arkadenbogen zusammen (A. marginalis, Drummond-Marginalarterie).

Venen folgen den Arterien gleichnamig. Zur Vena portae findet der Blutfluss über die Vena mesenterica sup. statt, über die Vena mesenterica inf. zur Vena splenica, bis sie schließlich in die Vena cava inferior münden.

Die Lymphe des Darms sammelt sich in den entsprechenden um den Darm gelegenen Lymphknoten, den Nll. ileocolici, Nll. colici dextri, medii, sinistri und sigmoidei. Im weiteren Verlauf mit den Arterien und Venen erreicht sie die Nll. mesenterici superiores und inferiores, die sich wiederum im Truncus intestinalis vereinen. Gemeinsam mit den Trunci lumbales bildet dieser die Lymphzisterne, Cisterna chyli. Über den Milchbrustgang, den Ductus thoracicus, wird die Lymphe nun zum linken Venenwinkel zwischen Vena subclavia und Vena jugularis interna geleitet, um schließlich über die Vena cava superior ins Venensystem zu gelangen (12,13).

2.1.1.2 Innervation

Die Innervation des Dickdarms wird über sympathische und parasympathische Fasern des Plexus mesentericus superior und inferior bewerkstelligt. Hierbei stellt der Cannon-Böhm-Punkt im ersten Drittel des Colon transversum die Grenze zwischen der parasympathischen Versorgung durch den zehnten Hirnnerven, den Nervus vagus, und dem Plexus hypogastricus inferior dar (12).

2.1.2 Histologie

Die Dickdarmschleimhaut weist, anders als beim Dünndarm, keine Zotten mehr auf. Charakteristisch für den histologischen Aufbau sind die eng aneinander gereihten Einsenkungen, sog. Krypten, welche 0,5 mm tief sind und viele resorbierende Enterozyten und schleimproduzierende Becherzellen enthalten. Ebenso ist die oberste Schicht der Schleimhaut voll von lymphatischen Zellen und bis weit ins Innere reichenden Follikeln (12,14).

2.1.3 Physiologie

Die zwei Hauptfunktionen des Dickdarms sind das Speichern des Nahrungsbreis sowie die Absorption von Wasser und Elektrolyten, um das Eindicken dessen zu ermöglichen. Lokale Bewegungen als auch peristaltische Wellen bewirken das Vorankommen des Chymus. Durch die sog. Massenbewegungen, die bis zu dreimal täglich bei der Nahrungsaufnahme ausgelöst werden, gelangt der Brei zum Rektum, wo letztendlich der Vorgang der Stuhlentleerung eingeleitet wird. Die unzähligen Darmbakterien sind einerseits für die Immunabwehr verantwortlich, andererseits sind sie maßgeblich an der Spaltung unverdaulicher Stoffwechselprodukte beteiligt (15).

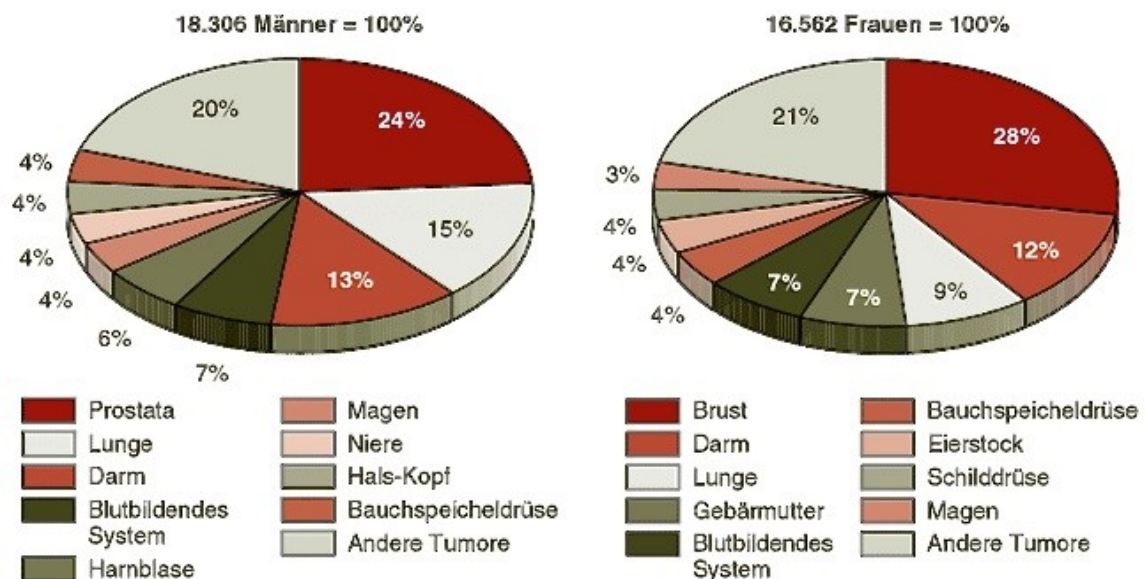
2.2 Definition des Kolonkarzinoms

„Als Grenzmarke zwischen Kolon- und Rektumkarzinom gilt eine Distanz von 16cm zwischen aboralem Tumorrand und Anokutanlinie - gemessen mit dem starren Rektoskop.“ (Herold, 2007) (16)

2.3 Epidemiologie

2.3.1 Prävalenz

Kolorektale Karzinome zählen weltweit zu den häufigsten Krebserkrankungen. In Österreich stellt das kolorektale Karzinom nach dem Mammakarzinom die zweithäufigste Malignomlokalisierung bei Frauen dar, bei Männern die dritthäufigste nach dem Prostata- und Bronchialkarzinom. Laut *Statistik Austria* waren zum Zeitpunkt der letzten Erhebung am 31.12.2007 36.102 Personen an einem kolorektalen Karzinom erkrankt, bei einer gesamten Krebsprävalenz von 300.134 (1).



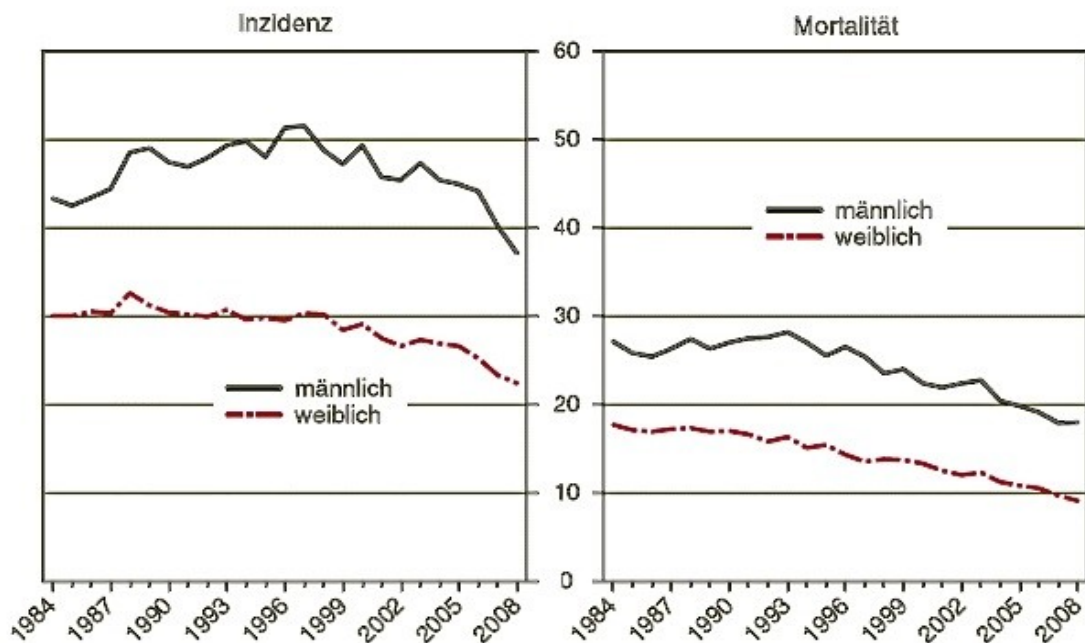
2. Abbildung: Die häufigsten Tumorlokalisationen (1)

2.3.2 Inzidenz

Die Anzahl der jährlichen Neuerkrankungen beträgt weltweit rund eine Million Menschen, wobei sehr starke regionale Unterschiede zu beobachten sind. Während die Inzidenzen in Europa und Nordamerika insgesamt seit Jahren am Steigen sind, sich in den letzten zwei Jahrzehnten sogar verdoppelt haben, ist das

Erkrankungsrisiko in weiten Teilen Afrikas, Indiens und Südamerikas um ein Vielfaches geringer. Migrationsstudien zufolge kann nach Auswanderungen das Risikoprofil des Gastlandes erreicht werden, und dies bereits in der Folgegeneration.

Innerhalb Europas bestehen bezüglich der Inzidenzen des kolorektalen Karzinoms ebenso große Variierungen, Deutschland führt die Liste mit rund 81/100.000/Jahr an (17). In Österreich erkrankten 2008 4.461 Personen an einem kolorektalen Karzinom, was einer Inzidenz von 28,7/100.000 entspricht (1).



3. Abbildung: Bösartige Neubildungen des Darms im Zeitverlauf (1)

Knapp vier von hundert österreichischen Männern entwickeln bis zu ihrem 75. Lebensjahr ein kolorektales Karzinom. Dies entspricht damit einem Risiko von rund 4%. Im Vergleich dazu erhalten in Österreich zwei von hundert Frauen die Diagnose Darmkrebs. Sie sind demnach einem Erkrankungsrisiko von 2% ausgesetzt (1).

2.3.3 Mortalität

Die Anzahl der an einem kolorektalen Karzinom versterbenden PatientInnen ist seit Jahren am Sinken. 2008 betrug sie in Österreich 2.241 und entsprach daher einer Mortalität von 12,8/100.000. Der Rückgang der Mortalität und des Lebenszeitrisikos in den letzten 20 Jahren lässt sich vor allem durch das verbreitete Screeningprogramm erklären, welches für eine Prävention bzw. Früherkennung kolorektaler Karzinome ausschlaggebend sein dürfte.

Die Haupttodesursache stellen mit 43% nach wie vor Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems dar, gefolgt von Krebserkrankungen, die in Österreich rund ein Viertel aller Todesfälle ausmachen. Der aktuellen Statistik entsprechend liegen kolorektale Karzinome in Österreich, nach dem Bronchialkarzinom, beim Mann an zweiter Stelle der durch eine Malignomkrankung hervorgerufenen Todesursachen. Bei der Frau sind sie, nach dem Mamma- und Bronchialkarzinom, an dritter Stelle. Unter Berücksichtigung aller Daten ist jeder Österreicher bzw. jede Österreicherin einem Risiko von 1,1% ausgesetzt, bis zu seinem 75. Lebensjahr an einem kolorektalen Karzinom zu versterben (1).

2.3.4 Verteilung

90% der kolorektalen Karzinome treten nach dem 50. Lebensjahr auf. Nur gelegentlich werden sie in früheren Jahren diagnostiziert, wobei es sich in diesen Fällen meist um einen prädisponierenden Krankheitsverlauf handelt. Dickdarmkarzinome sind demnach Erkrankungen des höheren Alters, mit einem Häufigkeitsgipfel jenseits des siebten Lebensjahrzehnts. Mehreren Studien zufolge konnte ein Anstieg der altersspezifischen Inzidenz ab dem 35. Lebensjahr verzeichnet werden, während jene der PatientInnen unter 35 unverändert blieb. Ab dem 40. Lebensjahr verdoppelt sich die Inzidenz wiederum alle zehn Jahre (16,17). Männer haben seit jeher ein höheres Risiko als Frauen, ein kolorektales Karzinom zu entwickeln. In Österreich betrug 2008 laut *Statistik Austria* das relative Risiko für Männer, mit jenem der Frauen verglichen, 1,7. Die Inzidenz des kolorektalen Karzinoms lag bei den Frauen bei 22,4, bei den Männern bei 37,1/100.000 (1). Beim Kolonkarzinom ist die Geschlechtsverteilung hinsichtlich

der Absolutzahlen beinahe ausgeglichen, während beim Rektumkarzinom die Männer dominieren (18).

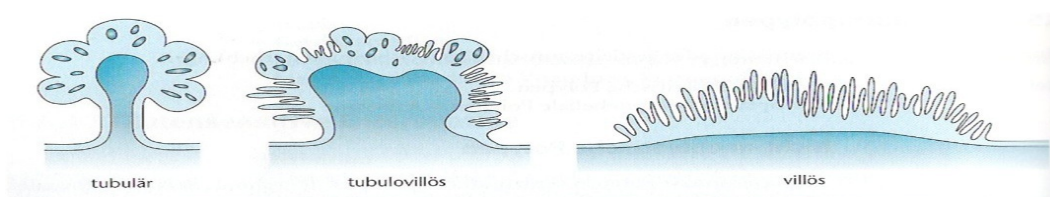
2.4 Ätiologie

Bei der Entstehung eines kolorektalen Karzinoms sind multiple Faktoren entscheidend. Nach dem heutigen Stand der Wissenschaft spricht man von genetischen, diätetischen, ethnischen als auch endogen-metabolischen Einflüssen. Man nimmt ebenso an, dass Adenome aus den Stammzellen der Kolonmukosa, die sich in jeder einzelnen Kolonkrypte befinden, entstehen (17). Genetische Prädisposition und kanzerogene Einwirkungen bestimmen weiters ihre Pathogenese.

2.4.1 Risikoerkrankungen

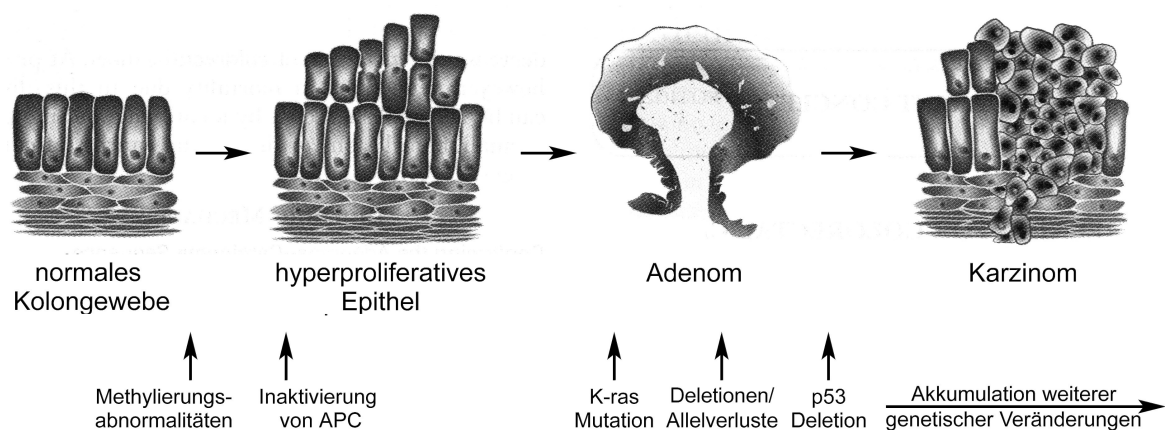
2.4.1.1 Kolorektale Adenome

Ausgehend von der Erkenntnis, dass Karzinome aus Epitheldysplasien, den sog. Adenomen hervorgehen, ist beim kolorektalen Karzinom, wie bei kaum einem anderen Tumor bisher, die Entstehung in molekular-genetischer Hinsicht bereits teilweise geklärt. (Adenom-Karzinom-Sequenz, s.u.) So entstehen mehr als 90% aller Dickdarmkarzinome aus Adenomen, oft als Schleimhautpolypen bekannt (19). Adenome sind Proliferationen der Dickdarmmukosa, die jedoch im Vergleich zu normalem Schleimhautepithel weniger differenziert sind. Auch deren Drüsengewebe ist deutlich verändert und man beschreibt sie in der Regel als tubulär, in das Darmlumen hinein wachsend, tubulovillös oder villös/flach (20).



4. Abbildung: Schematische Darstellung der Adenomtypen (20)

Nun weiß man aber auch, dass nicht aus jedem Adenom ein Karzinom hervorgeht und dass ab dem Zeitpunkt des Entstehens bis zur Karzinomentdeckung durchschnittlich 15 bis 20 Jahre vergehen. Insgesamt ergibt sich bei einem Adenom, dessen Durchmesser größer als 1 cm beträgt, ein 15%iges Risiko innerhalb der nächsten zehn Jahre einen bösartigen Tumor zu entwickeln. Bei den 45- bis 50-Jährigen beträgt die aus Koloskopien geschätzte Prävalenz von Adenomen ca. 10%. In der Altersgruppe der 50- bis 75-Jährigen ca. 15% und schon 40% bei den PatientInnen über dem 80. Lebensjahr. Weiters auffallend ist, dass sich Adenome in den einzelnen Darmabschnitten unterschiedlich entwickeln. Einerseits erklärt sich das durch ihre unterschiedlichen physiologischen Funktionen, andererseits durch die Beschaffenheit des Darminhalts selbst. Während proximal entstandene Adenome bei über 60-Jährigen weiter steigen, bleibt der Anteil der distalen, die die Hälfte aller Adenome ausmachen, annähernd gleich. Die geschlechtliche Verteilung betreffend führen, wie auch beim Karzinom, die Männer die Statistik an (17,18).



5. Abbildung: Adenom-Karzinom-Sequenz (21)

Molekulare Pathogenese der Adenom-Karzinom-Sequenz

Die wesentlichste Ursache der Entartung einer Zelle beruht auf einer somatischen Mutation des APC-Gens auf Chromosom 5, sowie dessen Verlust der

Heterozygotie. In der Folge wird das Gen inaktiv.

Als Mutationsauslöser gelten Nikotin, exzessiver Alkoholkonsum, heterozyklische Amine und Folsäuremangel bzw. verringerte Methioninzufuhr. Anschließend kommt es zur Mutation von K-Ras auf Chromosom 12q, die weitere Mutationen im TGF- β -II-Rezeptor und dem Verlust der Heterozygotie des Chromosoms 18q bedeuten. Die Tumorsuppressorgene DCC, DPC4 und SMAD2 werden inaktiviert. Der letzte Schritt der Adenom-Karzinom-Sequenz betrifft das Chromosom 17p, das ebenso einen Verlust der Heterozygotie aufweist, wie die Mutation des für das Protein p53 kodierende Gens. (17,18)

2.4.1.2 Chronisch entzündliche Darmerkrankungen

PatientInnen, die an Colitis ulcerosa erkrankt sind, haben ein bis zu 40-fach erhöhtes Risiko, ein kolorektales Karzinom zu entwickeln. In diesem Fall geht man von einer Entstehung aus Epitheldysplasien, die im Niveau der Mukosa liegen, aus. Im Rahmen der chronischen Entzündung kommt es zur Hyperprolifikation der Schleimhaut, was die Aktivierung der Stammzellen und die Bereitschaft für Mutationen mit sich bringt (17).

2.4.2 Ernährungs- und Umweltfaktoren

2.4.2.1 Fleisch- und fettreiche Ernährung

Die weltweiten Unterschiede der Inzidenzen des kolorektalen Karzinoms zeigen, unter Einbeziehung der regionalen Fleisch- und Fettaufnahme, dass sich ungesättigte Öle wie Omega3-Fettsäuren auf dessen Genese protektiv auswirken. Gesättigte Fettsäuren und tierische Fette gehen nach Giovannucci *et al.*, 1994 mit einem größeren Karzinomrisiko einher (22). Die kanzerogene Wirkung fettreicher Nahrungsmittel liegt an der damit verbundenen erhöhten Bildung von Gallensäuren und Cholesterin sowie den fäkalen Pentanen. Rotes Fleisch wie Rind und Schwein besteht zu einem höheren Anteil aus Fett und sollte daher durch Fisch und Huhn ersetzt werden (23). Die Zubereitungsart ist ebenso

bedeutsam, da beim Braten und Grillen Karzinogene aus dem tierischen Eiweiß entstehen (17).

2.4.2.2 Obst und Gemüse

Lösliche Ballaststoffe fördern im Darm die Synthese kurzkettiger Fettsäuren und Butyrate, die ihrerseits die Zellteilung inhibieren und proapoptotisch wirken. Unlösliche Ballaststoffe ändern die Konsistenz des Stuhls und ermöglichen eine schnellere Darmpassage und somit eine Verringerung der Karzinogenexposition, als auch eine sofortige Bindung toxischer Darminhalte. Obst, Gemüse und Getreide wirkt sich demnach protektiv auf Adenome aus, der Zusammenhang ist jedoch noch wenig bewiesen (17). In der großen europäischen *EPIC-Studie* (1993-1999) mit rund 520.000 PatientInnen in zehn Staaten konnte eine Reduktion des Entartungsrisikos nachgewiesen werden, dies allerdings nur bei entsprechender Zufuhr von Ballaststoffen im Ausmaß von 20g/Tag (18). Kein bedeutendes Ergebnis konnte in Bezug auf Rezidiventstehung gemacht werden (17).

2.4.2.3 Nikotin und Alkoholkonsum

Raucher haben ein bis zu 3-fach erhöhtes Risiko, ein kolorektales Karzinom zu entwickeln, als Nichtraucher (18). Zwar konnte diese Erkenntnis noch nicht ausreichend erklärt werden, *Liang PS et al. legten* 2009 in ihrer Metaanalyse jedoch den klaren Zusammenhang zwischen Tabakkonsum und der Inzidenz kolorektaler Karzinome dar. Das Risiko des Rektumkarzinoms wurde, verglichen mit jenem des Kolonkarzinoms, als höher eingestuft (24). Hinsichtlich der Mortalität besteht nach *Wei et al., 2011* ebenso eine Verbindung mit Nikotin im Sinne der positiven Beeinflussung der Tumorzellmigration, was sich in weiterer Folge schlecht auf die Prognose der Erkrankung auswirkt (25). Bei Mikrosatelliteninstabilität im Rahmen defekter DNA-Reparatur-Mechanismen trifft dies besonders zu (26).

Der Wirkmechanismus des Risikofaktors Alkohol konnte bis dato wenig bewiesen werden, ausschlaggebend hierbei dürfte die definitive Menge an Ethanol sein (27). In beiden Fällen bedarf es zusätzlich einer Genveränderung in Bezug auf

metabolische Enzyme, wie die Methylentetrahydrofolsäure-Reduktase oder das Cytochrom P450 (17,28). Der weltweite Anstieg des Alkoholkonsums und der geklärte Zusammenhang mit einer Vielzahl von Tumoren des gesamten Magen-Darm-Trakts sowie der Brust sollten nicht ungeachtet bleiben (27,29).

2.4.2.4 Bewegung und Übergewicht

Körperlich aktive Menschen sind laut *Hardman AE, 2001* um knapp 50% weniger gefährdet, ein Karzinom zu entwickeln, als körperlich inaktive (30). Auch ein hoher Body-Mass-Index erhöht das relative Risiko. Inwiefern diese beiden Faktoren einander bedingen, ist bis zum heutigen Stand noch ungeklärt, dennoch ist die protektive Wirkung von regelmäßiger Bewegung über einen längeren Zeitraum unumstritten (31).

2.4.2.5 Östrogen- und Progesteronsubstitution

Die Substitution weiblicher Geschlechtshormone bei postmenopausalen Frauen ergab in der großen *California Teacher's Study 2010* nach *Delellis Henderson et al.* (32) eine beachtliche Minimierung der Inzidenz des Kolonkarzinoms. Eine Therapie mit Östrogenen als Karzinomprävention kann jedoch noch nicht empfohlen werden (18).

2.4.2.6 Nicht steroidale Antiphlogistika (NSAR)

Bei konsequenter Einnahme entzündungshemmender Medikamente konnte auf Grund von Hemmung der Cyclooxygenase-2 eine protektive Wirkung in Bezug auf Adenome und Karzinome des Dickdarms bewiesen werden, in erster Linie durch das Hemmen des PGE2 und deren proapoptotischen Wirkung (33). Von einer Standardprophylaxe mit NSAR wird allerdings noch abgeraten (18).

2.4.3 Genetische Prädisposition

5 bis 10% aller kolorektalen Karzinome basieren auf genetischer Veranlagung, die das Einwirken kanzerogener Substanzen wie Nitrosamine begünstigt. Als genetische Syndrome wurden die familiäre adenomatöse Polypose (FAP), die hamartomatösen Polypose Syndrome, sowie das familiäre, nicht polypöse kolorektale Krebsyndrom (HNPCC) beschrieben.

Weiters spricht man von Risikogruppen, die das Entstehen eines kolorektalen Karzinoms begünstigen:

- Personen mit positiver Familienanamnese, v.a. Verwandte ersten Grades. Das Auftreten der Krebserkrankung vor dem 45. Lebensjahr bedeutet eine zusätzliche Risikosteigerung um das Vierfache während die Diagnosestellung nach dem 60. Lebensjahr mit geringerem Risiko einhergeht. Verwandte zweiten Grades sind nur mehr wenig gefährdet, bei der nächsten Generation besteht kein Risiko mehr.
- Genetische Prädisposition für ein hereditäres Karzinom
- Chronisch entzündliche Darmerkrankungen v.a. Colitis ulcerosa bei Krankheitsdauer von über 15 Jahren (17,18)

2.4.3.1 Familiäre adenomatöse Polypose (FAP)

Die FAP ist durch das Auftreten von mehr als 100 kolorektalen Adenomen gekennzeichnet, zusätzlich kommt es zu Gewebsneubildungen in extrakolonischen Organen. Der Beginn der Adenomentstehung findet um die zweite Lebensdekade statt, wobei distale Darmabschnitte häufiger betroffen sind. 1% aller kolorektalen Karzinome gehen auf die FAP zurück. Die verantwortliche Genmutation betrifft das Tumorsuppressorgen APC und wird autosomal-dominant vererbt, die Häufigkeit beträgt ca. 1:10.000 (17).

Zu den extrakolonische Manifestationen zählen:

- Adenome und Karzinome des Duodenums, Drüsenkörperzysten des

Magens, selten Karzinome

- Epidermoidzysten und Osteome (Gardner-Syndrom)
- Glio- und Medulloblastome (Turcot-Syndrom)
- Kongenitale Hypertrophie des retinalen Pigmentepithels (CHRPE)

Da die FAP als obligate Präkanzerose gilt, verlangt sie bei genetisch vorbelasteten PatientInnen schon ab dem 10. Lebensjahr Vorsorgeuntersuchungen. Nach Pubertätsabschluss wird eine Proktokolektomie mit Ileo-Anal-Pouch empfohlen (16,17).

2.4.3.2 Hereditäres, nicht polypöses Kolonkarzinom-Syndrom (HNPCC)

Bei HNPCC PatientInnen wird meist schon im 5. Lebensjahrzehnt ein kolorektales Karzinom diagnostiziert. Im Vergleich zur FAP muss das HNPCC auf Grund des Fehlens der beachtlichen Klinik anamnestisch entsprechend der *Amsterdam-Kriterien* definiert werden (s.u.). Die Ursache der Erkrankung liegt an Mutationen unterschiedlichster DNA-Reparatur-Gene, die zum Auftreten von Basenfehlpaarungen führt. Diese werden an Stellen repetitiver kurzer DNA-Bruchstücke, den sog. Mikrosatelliten, nachgewiesen und demnach als Mikrosatelliteninstabilität beschrieben. Bei positiver Familienanamnese und Erfüllung einer der *Bethesda-Kriterien* (s.u.), kann dieser Gendefekt präventiv untersucht werden. Das Lebenszeitrisiko eines kolorektalen Karzinoms wird mit 80% angegeben, zusätzlich ist das HNPCC mit extrakolonalen Tumoren assoziiert. Zu diesen zählen das Endometriumkarzinom mit einem Risiko von 60%, Ovarial- und Magenkarzinome mit einem Risiko von je 10% und das Urothelkarzinom mit einem 2%igen Erkrankungsrisiko (17).

Amsterdam-Kriterien

Diagnose eines HNPCC-assoziierten Karzinoms dreier Familienangehörige wobei

- ein Patient der Verwandte ersten Grades der beiden anderen ist,
- zwei aufeinanderfolgende Generationen betroffen sind und

- ein Karzinom davon vor dem 50. Lebensjahr diagnostiziert wurde.

Die familiäre adenomatöse Polypose als Differentialdiagnose muss ausgeschlossen sein (16).

Um auch in kleineren Familien die Diagnose eines HNPCC stellen zu können, bezieht man sich auf die Bethesda-Kriterien:

- Positive Familienanamnese entsprechend den Amsterdam-Kriterien
- Synchrone bzw. metachrone HNPCC-assoziierte Tumoren
- KRK und ein Verwandter ersten Grades mit KRK bzw. HNPCC-assoziiertem Tumor oder kolorektalem Adenom vor dem 40. Lebensjahr
- Kolon- oder Endometriumkarzinom vor dem 45. Lebensjahr
- Adenom vor dem 40. Lebensjahr (16)

2.4.3.3 Hamartomatöse Polyposen

Hamartomatöse Polyposen sind äußerst selten und nur für rund 0,1% der kolorektalen Karzinome verantwortlich. Zu diesen zählen das Peutz-Jeghers-Syndrom, die juvenile Polypose und das Cowden-Syndrom. Für AnlageträgerInnen dieser Syndrome wurde ein Lebenszeitrisiko von 90% beschrieben, einen malignen Tumor zu entwickeln. Neben dem gesteigerten Risiko für Dickdarmkarzinome ist das Risiko für andere intestinale wie extraintestinale Tumoren ebenso erhöht (17).

2.5 Prävention

Obwohl nach heutigem Stand der Wissenschaft noch nicht eindeutig bewiesen ist, inwiefern sich der Lebensstil tatsächlich auf die Inzidenz des kolorektalen Karzinoms auswirkt, sollten diätetische Maßnahmen zur Primärprophylaxe ergriffen werden. Dazu zählen in erster Linie die Gewichtsreduktion bei übergewichtigen PatientInnen sowie regelmäßige körperliche Aktivität. Der Alkoholkonsum sollte auf 20g/Tag beschränkt, der Verzicht von Nikotin angestrebt

werden (25). Obst und Gemüse sollte mindestens fünfmal täglich verzehrt werden. Die medikamentöse Sekundärprophylaxe nach Polypektomie wird nur bei FAP-PatientInnen empfohlen (18). Zur Sekundärprävention zählen die im folgenden Kapitel beschriebenen Screeningmaßnahmen wie die Koloskopie und der fäkal okkulte Bluttest (FOBT), welche der Früherkennung des kolorektalen Karzinoms dienen (17).

2.5.1 Screening

Den Goldstandard bei der Früherkennung kolorektaler Karzinome stellt bislang die Koloskopie dar, die im 50. Lebensjahr bei jedem Menschen durchgeführt werden sollte. Durch eine frühzeitige Adenektomie im Rahmen einer Koloskopie kann das Auftreten kolorektaler Karzinome um 66 bis 90% verringert werden. Der Sigmoidoskopie ist sie auf Grund besserer Aussagekraft vorzuziehen und daher nur bei Ablehnung der PatientInnen angedacht. In diesen Fällen ist auch die jährliche Untersuchung auf Blut im Stuhl, die fäkale okkulte Bluttestung (FOBT), unerlässlich. Hiermit kann immerhin noch, im Falle genauer Instruktion und Durchführung, eine bis zu 33%ige Risikominimierung erreicht werden. Adenome und symptomlose frühe Karzinome werden allerdings mit dieser Methode nicht zufriedenstellend diagnostiziert. Molekulares Screening auf DNA-Veränderungen des Stuhls wird derzeit nur innerhalb von Studien durchgeführt, auch radiologische Diagnostik mittels CT- oder MRT-Kolonographie stellt noch keine optimale Alternative dar (17).

2.5.1.1 Koloskopie-Screening

Die sensitivste und spezifischste Untersuchung zur Früherkennung von kolorektalen Polypen und Karzinomen stellt die Koloskopie dar. Obwohl die Effektivität sehr abhängig vom jeweiligen Untersucher ist, wurde mit diesem Verfahren in den letzten Jahren ein Rückgang der Inzidenz des kolorektalen Karzinoms wie dessen bedingte Mortalität erzielt. Die Tumoren konnten einerseits sofort mittels Polypektomie entfernt, andererseits in einem früheren Stadium diagnostiziert und rasch einer adequaten Therapie unterzogen werden, was die

Gesamtprognose der PatientInnen deutlich verbesserte (18).

Auch konnte der schlechte Ruf der Darmspiegelung in der Bevölkerung selbst etwas minimiert werden. Eine effiziente Prämedikation sowie flexiblere Koloskope und geübtere UntersucherInnen waren dafür entscheidend, die *Sanfte Koloskopie* zu verbreiten (34).

Demnach wird heutzutage in den Ambulanzen und Kliniken auf Wunsch der PatientInnen vor der Untersuchung eine ausreichende Sedierung mit einem Analgetikum eingeleitet, oft auch in Kombination mit einem Narkotikum. Eine etwaige Antikoagulationstherapie muss zuvor auf Grund der erhöhten Blutungsgefahr abgesetzt werden und die bestmögliche vorangegangene Entleerung des Darmes soll dem Untersucher die für die Darmspektion nötige Sicht gewährleisten. In stabiler Seitenlage der PatientInnen wird nun das Koloskop bis hin zum terminalen Ileum vorgeschoben, um dann unter Insufflation von CO₂ in einer empfohlenen Rückzugszeit von mindestens sechs Minuten die gesamte Darmmukosa zu inspizieren. Gewebeproben können hierbei sofort entnommen und Polypen abgetragen werden.

Zu den häufigsten Komplikationen zählen Blutungen, die sich jedoch meist noch im Rahmen der Untersuchung stillen lassen. Kommt es infolgedessen zum Einschwemmen von Bakterien, ist eine antibiotische Abschirmung indiziert. Die gefürchtete Darmperforation tritt mit einem Risiko von rund 0,15% auf, ein klarer Zusammenhang mit dem Alter der PatientInnen konnte bereits belegt werden. Somit ist das Perforationsrisiko ab dem 75. Lebensjahr deutlich erhöht (35).

Im Jahre 2004 gaben die *Deutsche Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten* und die *Arbeitsgemeinschaft für Gastroenterologische Onkologie* ein Schema für die Früherkennung kolorektaler Karzinome bei der asymptomatischen Bevölkerung heraus.

- ◆ Ab dem 50. Lebensjahr (spätestens ab dem 55. Lebensjahr):
Koloskopie alle 10 Jahre mit unbegrenztem oberem Alter, FOBT entfällt

- ◆ Bei Ablehnung der Koloskopie ab dem 50. Lebensjahr:
Sigmoidoskopie alle 5 Jahre UND jährliche FOBT
- ◆ Bei Ablehnung der Sigmoidoskopie ab dem 50. Lebensjahr:
Jährliche FOBT

Bei einem unauffälligen Befundergebnis wird die Wiederholung der Koloskopie nach zehn Jahren empfohlen. Das Festlegen einer Altersbegrenzung muss im Einzelfall getroffen werden (18).

2.5.1.2 Fäkale okkulte Bluttestung (FOBT)

Ein weiteres Verfahren zur Früherkennung kolorektaler Karzinome stellt die Untersuchung des Stuhls auf okkultes Blut dar (Handelsname: Hämoccult®). Aufgrund der einfachen Durchführung und der hervorragenden Daten hinsichtlich einer relativen Mortalitätsreduktion um 33% konnte sich diese preisgünstige Testung etablieren.

Der FOBT besteht aus drei Teststreifen mit seinerseits zwei Auftragefeldern. Das Prinzip des Tests basiert auf dem biochemischen Nachweis von nicht sichtbarem Blut am Stuhl, da kolorektale Karzinome weit öfter Blutungen verursachen als die intakte Schleimhaut des Darms. Man streicht dabei zweimal eine kleine Stuhlprobe auf ein Filterpapier, das mit Guajak-Harz bearbeitet wurde und eine Reaktion von Hämoglobin und dem noch zuzuführenden Wasserstoffperoxid auslöst. Ein positives Testergebnis lässt sich an der Blaufärbung eines der Indikatorstreifens ablesen und impliziert nach rektaler Austastung eine sofortige Koloskopie des gesamten Darms (18).

Den *S3-Leitlinien der deutschen Krebsgesellschaft 2004/2008* zufolge, wird der Hämoccult® bei PatientInnen ohne Familienanamnese für kolorektale Karzinome einmal jährlich ab dem 50. Lebensjahr empfohlen. Wesentlich hierbei ist jedoch die genaue Anweisung der PatientInnen, da insbesondere die Vitamin-C-Einnahme für ein falsch-negatives, der Verzehr von rotem Fleisch für ein falsch-

positives Ergebnis sorgen (16,18). Demnach ist der Guajak-Test auf Grund der niedrigen Sensitivität und Spezifität der Koloskopie noch unterlegen (18).

Immunologische und genanalytische Stuhltests sind trotz der hohen Sensitivität für Karzinome noch keine Alternative für den FOBT als Screeningmethode. Dies liegt sowohl an den höheren Unkosten, als auch an dem Mehraufwand der Tests. Die exzellenten Studienergebnisse lassen eine Verbreitung dieser Testverfahren jedoch erahnen (18).

2.6 Morphologie

Makroskopisch kann bei den kolorektalen Karzinomen ein ulzerierendes, polypoides und diffus-infiltrierendes Wachstum festgestellt werden, die klinische Symptomatik geht mit diesen Mustern einher (19). Blutungen einerseits, tumorbedingte Stenosen mit Ileussyndromatik als Komplikation andererseits, werden beobachtet. Über 50% aller kolorektalen Karzinome entwickeln sich im rektosigmoidalen Bereich, gefolgt vom Zökum und den übrigen Kolonabschnitten (17).

Adenokarzinome als die organtypischen Tumoren des kolorektalen Bereichs, überwiegen eindeutig die histologische Klassifikation der Weltgesundheitsorganisation (WHO). Selten werden muzinöse Adenokarzinome, Siegelringzellkarzinome, adenosquamöse Karzinome, Plattenepithelkarzinome und kleinzellige Karzinome diagnostiziert. Andere Malignome wie Karzinoide oder Lymphome stellen ebenso sehr selten Differentialdiagnosen dar. In rund 5% der Fälle treten kolorektale Karzinome multipel auf, daher muss immer eine Suche nach weiteren Tumoren stattfinden (19).

Eine weitere Einteilung erfolgt hinsichtlich des Differenzierungsgrades in niedrigmaligne und hochmaligne Karzinome und wird als sog. Grading bezeichnet. Gut differenzierte (G1) und mäßig differenzierte Karzinome (G2) zählen zu den niedrigmalignen Karzinomen (low-grade-Karzinome). Als hochmaligne gelten schlecht differenzierte (G3) und undifferenzierte (G4) Karzinome (high-grade-

Karzinome). Die Mehrzahl der Adenokarzinome ist mäßig differenziert und hat eine bessere Prognose als high-grade-Karzinome (16,17,19).

Lokales Wachstum und Metastasierung werden mittels TNM-System, dem sog. *Staging* klassifiziert und im nächsten Kapitel ausführlicher besprochen.

2.7 Stadieneinteilung

Die heutzutage am häufigsten verwendete Methode zur Einteilung von Tumoren ist das TNM-System. Der Primärtumor und dessen lokale Ausbreitung (T), die regionäre Lymphknotenmetastasierung (N) und die hämatogenen Fernmetastasen (M) werden in dieser Klassifikation beurteilt.

Abhängig von der Methode, die Ausbreitung des Primärtumors zu bestimmen, unterscheidet man die klinische von der pathologischen TNM-Klassifikation. Während bei der prätherapeutischen klinischen (cTNM) Klassifikation die Befunde mittels Bildgebung und chirurgischer Exploration erhoben werden, werden bei der pathologischen (pTNM) Klassifikation postoperativ bzw. im Rahmen einer Autopsie histopathologische Untersuchungen des Tumorresektats durchgeführt. Die pT-, pN- und pM-Kategorien werden in weiterer Folge ermittelt.

Der Ausdehnungsgrad des Primärtumors wird mit Zahlen von 1 bis 4 angegeben, die Beteiligung regionärer Lymphknoten von 0 bis 4. Die Evidenz von Fernmetastasen beschreibt man als pM1, ein unzureichendes Ergebnis, wenn also eine Kategorie nicht bestimmt werden kann, wird, wie im Beispiel der Metastasierung als pMx, mit dem Buchstaben x angegeben (17,19).

Die Buchstaben r, m, y und a erlauben eine zusätzliche Beschreibung in speziellen Fällen. Somit steht r für ein Rezidiv nach krankheitsfreiem Verlauf, m für multiple Primärtumoren, y für eine Klassifikation während oder nach initial multimodaler Therapie und a für eine Klassifikation mittels Autopsie (19).

Neben dem TNM-System berücksichtigt man auch das Fehlen oder Vorhandensein von Residualtumoren nach der Behandlung. R1 steht hierbei für den mikroskopischen, R2 für den makroskopischen Nachweis eines Tumorrests (36). Auf die organspezifische Einteilung beim kolorektalen Karzinom möchte ich im folgenden Kapitel näher eingehen.

2.7.1 UICC-Klassifikation kolorektaler Karzinome

Die aktuelle UICC-Klassifikation von 2002 mit der TNM-Einteilung und Stadiengruppierung dient zur internationalen Klassifikation kolorektaler Karzinome.

1. Tabelle: Stadieneinteilung

Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium I	T1, T2	N0	M0
Stadium IIa	T3	N0	M0
Stadium IIb	T4a	N0	M0
Stadium IIc	T4b	N0	M0
Stadium III	Jedes T	N1, N2	M0
Stadium IIIa	T1, T2	N1a	M0
	T1	N2a	M0
Stadium IIIb	T3, T4a	N1	M0
	T2, T3	N2a	M0
	T1, T2	N2b	M0
Stadium IIIc	T4a	N2a	M0
	T3, T4b	N2b	M0
	T4b	N1, N2	M0
Stadium IVa	Jedes T	Jedes N	M1a
Stadium IVb	Jedes T	Jedes N	M1b

2. Tabelle: TNM-Klassifikation kolorektaler Karzinome

TX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
Tis	Intraepithelial oder Infiltration der Lamina propria (ohne feststellbare Ausbreitung durch die Muscularis mucosae in der Submucosa)
T1	Tumor infiltriert Submucosa
T2	Tumor infiltriert Muscularis propria
T3	Tumor infiltriert durch die Muscularis propria in die Subserosa oder in das nicht-peritonealisierte perikolische oder perirektale Gewebe
T4	Tumor infiltriert direkt in andere Organe oder Strukturen und/oder perforiert das viszerale Peritoneum
T4a	Tumor perforiert viszerales Peritoneum
T4b	Tumor infiltriert direkt in andere Organe oder Strukturen

NX	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
N0	Keine regionäre Lymphknotenmetastasen
N1	Metastase(n) in 1 bis 3 regionären Lymphknoten
N1a	Metastasen in einem regionären Lymphknoten
N1b	Metastasen in 2 bis 3 regionären Lymphknoten
N1c	Tumorknötchen oder Satelliten im Fettgewebe der Subserosa oder im nicht-peritonealisierten perikolischen oder perirektalen Fettgewebe ohne regionäre Lymphknotenmetastasen
N2	Metastasen in 4 oder mehreren regionären Lymphknoten
N2a	Metastasen in 4 bis 6 regionären Lymphknoten
N2b	Metastasen in 7 oder mehreren Lymphknoten

MX	Fernmetastasen können nicht beurteilt werden
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen
M1a	Fernmetastase(n) auf ein Organ beschränkt
M1b	Fernmetastasen in mehr als einem Organ oder im Peritoneum

2.8 Metastasierung

Die Ausbreitung über den Primärtumor hinaus erfolgt unmittelbar ins umliegende Fettgewebe, nach Gefäßeinbrüchen mittels lymphogener und hämatogener Absiedelung. Da diese Faktoren von sowohl therapeutischer als auch prognostischer Bedeutung sind, müssen sie exakt klassifiziert werden (17).

2.8.1 Lymphogene Ausbreitung

Tumorzellen gelangen über den Lymphstrom in die Lymphkapillaren und sammeln sich zuerst in den sog. Wächter-Lymphknoten, auch sentinel nodes genannt. Aus der Topographie der intramuralen Lymphgefäße erklärt sich die zirkuläre lymphogene Ausbreitung quer zur Darmachse (19). Zunächst treten Metastasen in den regionären Lymphknoten entlang der versorgenden Arterien auf, unipolare Metastasenstraßen finden sich beim Kolon ascendens und descendens. Da das Kolon transversum von der Arteria mesenterica superior und inferior versorgt wird, bilden sich in diesen Abschnitten bipolare Metastasenstraßen.

Beim Rektumkarzinom bilden sich abhängig von der Lokalisation des Tumors bis zu drei Metastasenstraßen. Tief wachsende Tumoren breiten sich zusätzlich über die inguinalen Lymphknoten und jene der Beckenwand aus (16).

2.8.2 Hämatogene Ausbreitung

Der Eintritt der Tumorzellen in Kapillaren und kleinere Venen bedeutet den ersten Schritt der Metastasierung, durch hämatogene Verschleppung gelangen diese Zellen an das Kapillarnetz nachfolgender Organe und bilden schließlich einen Streutumor. Abhängig vom weiterleitenden venösen Gefäßgebiet werden drei Metastasierungstypen unterschieden: der Cava-, Lungenvenen- und Pfortader-Typ. Liegt der Primärtumor nun im Abflussgebiet der Vena cava inferior oder superior, entwickeln sich Lungenmetastasen, Tumoren der Lunge breiten sich jedoch als Lungenvenen-Typ auf Organe des großen Kreislaufs aus. Die Tumorzellen des Magen-Darm-Trakts folgen dem venösen Abfluss der Vena

portae und gehören somit dem Pfortader-Typ an, was in erster Linie eine Verschleppung in die Leber bedeutet. Eine Ausnahme stellt das distale Rektumkarzinom dar, da es im Abflussgebiet der Vena cava inferior liegt und demnach bevorzugt Lungenmetastasen entwickelt. Weiters ist bekannt, dass im Laufe der Tumorerkrankung sog. Metastasierungskaskaden entstehen, die sukzessiv zum Befall anderer Organe und einer Generalisierung führen, ebenso können im Zuge dessen ganze Organsysteme übersprungen werden (19).

Auf Grund dieser Metastasierungswege neigt das Kolonkarzinom zur Ausbreitung in Lymphknoten, Leber und Lunge, seltener treten Knochen- und Hirnmetastasen auf. Das Rektumkarzinom rezidiert häufig lokoregionär mit Peritonealkarzinose und Infiltration des Kreuzbeins, ebenso findet man Leber- und Lungenmetastasen (17).

2.9 Klinik

Bedauerlicherweise tritt beim kolorektalen Karzinom keine zuverlässige Frühsymptomatik auf. Zu den klinischen Leitsymptomen des Kolonkarzinoms zählen plötzliche Änderungen des Stuhlverhaltens und unspezifische Bauchschmerzen. Okkultes oder manifestes Blut am Stuhl tritt hingegen bei weiter distal gelegenen Tumoren wie dem Sigma- und dem Rektumkarzinom auf. Beim positiven Hämocult®-Test verschleiern jedoch nicht selten Hämorrhoiden als Differentialdiagnose den Befund, ein Karzinom muss dessen ungeachtet vor Behandlungsbeginn ausgeschlossen sein. Die Klinik des kolorektalen Karzinoms hängt demnach stark von seiner Lokalisation ab (17).

Während bei rund 15% der PatientInnen die Diagnose auf Grund einer Obstruktion gestellt wird, klagen ebenso viele lediglich über Leistungsminderung und Abgeschlagenheit. Beim rechtsseitigen Kolonkarzinom werden vor allem chronische Blutungsanämien und Gewichtsverlust beobachtet.

In fortgeschrittenen Stadien bestimmen Metastasen die Krankheitsbeschwerden. Bei Leberbeteiligung treten erst spät Symptome im Sinne der Leberinsuffizienz auf. Zu diesen zählen die portale Hypertension und Gerinnungsstörungen bis hin zur hepatischen Enzephalopathie und dem Leberausfallskoma.

Lungenmetastasen bleiben meist trotz massiver Organbeteiligung sehr lange beschwerdefrei, die lymphogene Ausbreitung macht sich hingegen als uncharakteristische gastrointestinale Symptomatik vorzeitig bemerkbar. Hierbei entwickelt sich im generalisierten Stadium sehr häufig eine Peritonealkarzinose, die meist als Aszites oder Darmverschluss klinisch manifest wird. Ebenso kann es zum Auftreten von Knochen- und Hirnmetastasen kommen (16,17).

2.10 Diagnostik

Zur Diagnosestellung des kolorektalen Karzinoms werden nach einer ausführlichen Anamnese verschiedenste physikalische Untersuchungen eingeleitet. In der Früherkennung stehen hierbei die digitale rektale Austastung und der Hämoccult®-Test an erster Stelle. Obligat durchzuführen ist auf Grund der hohen Aussagekraft immer eine Endoskopie, gegebenenfalls mit Biopsie. Beim Kolonkarzinom ist die Koloskopie das Diagnostikum der Wahl, sie ermöglicht den UntersucherInnen eine genaue Beschreibung und Lokalisation des Tumors. Weiters müssen prätherapeutisch ein Thorax-Röntgen, eine Sonographie und CT von Abdomen und Becken aufgenommen werden, ein genaues Staging ist insbesondere bei Verdacht auf Metastasen unerlässlich. Laborchemisch werden das Blutbild, die Leberfunktion und die Tumormarker analysiert, welche jedoch vor allem in der Nachsorge eine bedeutende Rolle übernehmen (17,18).

2.10.1 Primärdiagnostik

2.10.1.1 Anamnese und Status

Plötzlich aufgetretene Veränderungen der Stuhlgewohnheiten, rascher Gewichtsverlust, ein Leistungsabfall mit vermehrter Müdigkeit oder rektale Blutungen zählen zur klinischen Symptomatik eines Kolonkarzinoms und müssen unbedingt weiter abgeklärt werden. Daher ist eine ausführliche Kurz- und Langzeitanamnese der erste, wenn nicht sogar wesentlichste Schritt zur Früherkennung eines Karzinoms. Hierbei soll zugleich auf Erkrankungen in der

Familie eingegangen werden, um eine genetische Prädisposition herauszufinden. Auch wiederholte krampfartige Schmerzen in der Abdominalgegend, ein vermehrter Stuhldrang mit Blut- oder Schleimauflagerungen sind ernstzunehmende Warnzeichen.

Im Rahmen einer ausführlichen körperlichen Untersuchung sollten nun die Abdominalgegend auf Verhärtungen, Organveränderungen und vergrößerte Lymphknoten abgetastet werden.

Eine digitale rektale Untersuchung ist ebenso unerlässlich. Hierbei palpiert der Untersucher bzw. die Untersucherin unter Verwendung eines Gleitgels mit dem Finger das Rektum und die angrenzenden Organe auf Unregelmäßigkeiten des Sphinktertonus und der Schleimhaut. Die Untersuchung ist in jedem Fall nur richtungsweisend und darf daher nicht als Ersatz für eine Sigmoidoskopie bzw. Koloskopie angesehen werden (18).

2.10.1.2 Laborchemische Untersuchung

Bei Verdacht auf ein Kolonkarzinom wird sofort eine genaue Laboruntersuchung veranlasst. Obligat hierbei ist das Blutbild mit Bestimmung der absoluten Leukozytenzahl, der alkalischen Phosphatase (AP) sowie der Laktatdehydrogenase (LDH) und des Carcino-Embryonalen Antigens (CEA) (17). Dieses lässt sich, in Relation zum UICC-Stadium des Karzinoms, im Serum der PatientInnen erhöht messen und ist daher ein wichtiger Indikator (16).

Der Nachweis des Tumormarkers CA 19-9 (Carbohydrate Antigen) findet seine Bedeutung eher in der Therapienachsorge und wird daher in der Primärdiagnostik nur optional empfohlen (17). Ebenso wenig findet die Bestimmung der drei erwähnten Tumormarker bisher seinen Platz im Tumorscreening, da sie einerseits tumorunspezifisch, andererseits zu kostenintensiv sind (16,18).

2.10.1.3 Apparative Diagnostik

Den Goldstandard in der Diagnostik des Kolonkarzinoms stellt die Koloskopie dar. Demnach ist die komplette Spiegelung des Kolon bis hin zum terminalen Ileum, zur histologischen Diagnosesicherung gegebenenfalls mit Biopsie, bei Verdacht auf ein Tumorgeschehen zwingend durchzuführen. Sie dient auf Grund der hohen Spezifität und Sensitivität, wie bereits im Kapitel Präventionsmaßnahmen ausführlich beschrieben wurde, auch als geeignete Screeningmethode zur Früherkennung kolorektaler Karzinome.

Ein erhöhtes Komplikationsrisiko durch die Koloskopie oder unpassierbare Stenosen würden die Indikation für eine CT- bzw. MRT-Kolonographie (*Virtuelle Koloskopie*) stellen. Bei diesem Verfahren werden den PatientInnen, zur exakten Darstellung des entleerten Magen-Darm-Trakts, unmittelbar vor einer herkömmlichen Computertomographie CO₂ über einen Katheter insuffliert (17,18).

Die Bildgebung mittels konventionellem Thorax-Röntgen, Abdomensonographie und Computertomographie von Thorax und Abdomen dienen insbesondere im Falle des Verdachts auf Leber- bzw. Lungenmetastasen dem genaueren Staging.

2.10.2 Prätherapeutische Diagnostik

Vor jeder Intervention bei PatientInnen mit einem Kolonkarzinom muss ein histologisches Biopsieergebnis vorliegen, erst im Anschluss daran kann eine weitere Therapieplanung erfolgen.

Die *S3-Leitlinie 2004/2008 der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS)* empfiehlt folgende präoperative Untersuchungsschritte zur Staging des Kolonkarzinoms:

- ◆ Anamnese unter Berücksichtigung familiärer Häufung
- ◆ Körperliche Untersuchung inklusive digital-rektaler Untersuchung
- ◆ Routinelabor inklusive CEA, Blutgruppe

- ◆ Thorax-Röntgen in 2 Ebenen, EKG
- ◆ Vollständige Koloskopie - sofern nicht bereits erfolgt (bei nicht passierbarer Stenose Koloskopie 3 bis 6 Monate postoperativ)
- ◆ Abdominelle Sonographie
- ◆ CT-/MRT-Abdomen
- ◆ Optional: Thorax-CT, endoluminale Sonographie, Zystoskopie und gynäkologische Untersuchung bei V.a. Infiltration umliegender Organe (18)

2.11 Therapie

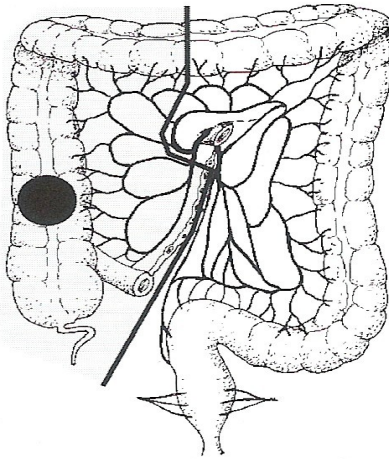
Die Prognose des kolorektalen Karzinoms wird von tumorspezifischen, patientInnenabhängigen und therapieassoziierten Faktoren bestimmt. Da man aber weder Histologie und Lokalisation des Tumors einerseits, noch Alter der PatientInnen und dessen/deren Allgemeinzustand andererseits beeinflussen kann, ist es umso wesentlicher, alle Therapiemöglichkeiten, die uns heute zur Verfügung stehen, bestmöglich zu nützen. Zu diesen zählen die radikale chirurgische Resektion des Primärtumors inklusive Lymphknoten, die Strahlen-/Chemotherapie als auch die Therapie von Metastasen (16,17,37).

2.11.1 Chirurgie

2.11.1.1 Chirurgische Maßnahmen beim Kolonkarzinom

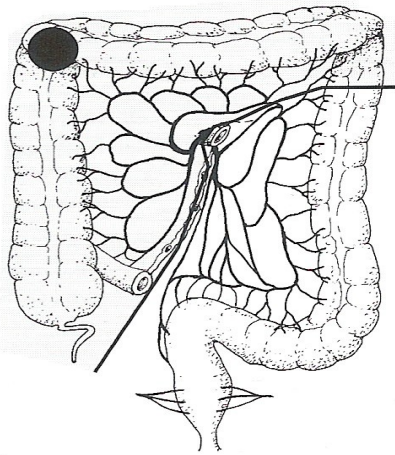
Die entscheidendste Rolle in der Therapie des Kolonkarzinoms spielt auch heutzutage noch die chirurgische Resektion, Radikalität der ChirurgInnen und ein genaues Lymphknotenstaging mit anschließender pathohistologischer Befundung sind von zentraler Bedeutung.

Das Operationsverfahren ist hierbei vor allem von der anatomischen Region des Primärtumors abhängig (17,37).



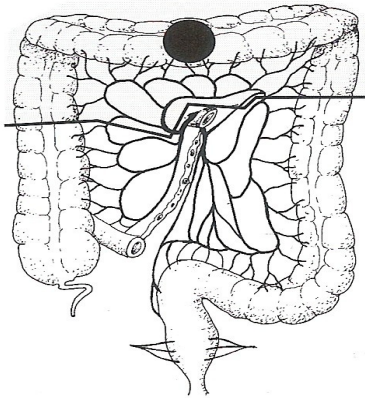
6. Abbildung: Resektionslinien beim Aszendenskarzinom (37)

Eine Hemikolektomie rechts wird bei Karzinomen des Zökums und des proximalen Kolon ascendens durchgeführt. Oral wird die Resektionslinie durch das terminale Ileum, distal in der Mitte des Kolon transversum gelegt. Daraus ergibt sich die Ileotransversostomie als End-zu-End, Seit-zu-End oder Seit-zu-Seit Anastomose.



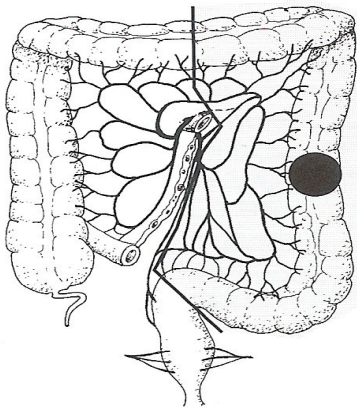
7. Abbildung: Resektionslinien beim Karzinom der rechten Flexur (37)

Zur erweiterten Hemikolektomie mit Ileodeszendostomie führen distale Tumoren des Kolon asz. und der rechten Flexur. Ist der Tumor im Bereich der linken Flexur lokalisiert, muss die Resektionslinie proximal der rechten Flexur und am Übergang von Kolon desz. zu Sigma gelegt werden. Selbiges gilt für Transversummalignome nahe einer Flexur.



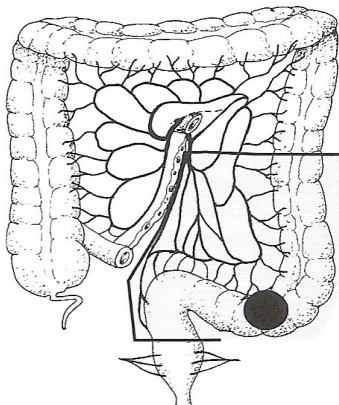
8. Abbildung: Resektionslinien
beim Transversumkarzinom (37)

Eine Aszendodeszendostomie wird
bei Tumoren des Kolon transversum
als ausreichend erachtet.



9. Abbildung: Resektionslinien
beim Deszendenskarzinom (37)

Die Entfernung des Sigmas und der
linken Flexur bewirkt Karzinome
des Kolon deszendens. Eine
Transversorektostomie ist die Folge.



10. Abbildung: Resektionslinien
beim Sigmakarzinom (37)

Das Sigmakarzinom fordert die
Mobilisierung der linken Flexur, des
Kolon deszendens und des
proximalen Rektums als Grundlage
einer spannungsfreien
Deszendorektostomie bzw.
Transversorektostomie.

Die laparoskopische Chirurgie konnte sich bei onkologischen Eingriffen noch nicht richtig etablieren, obwohl die Ergebnisse der konventionellen Chirurgie nicht nachstehen. Die Operationsdauer und die Qualifikation der ChirurgInnen sprechen allerdings noch immer für die Laparotomie (37).

2.11.1.2 Resektion von Adenomen

Neoplastische Polypen werden meist endoskopisch mittels Schlingenabtragung entfernt, regelmäßige koloskopische Kontrollen in drei- bis fünfjährigen Abständen zur Früherkennung eines Karzinoms sind unerlässlich.

Im Falle des Befundes eines pT1-Karzinoms bezieht sich das weitere Vorgehen selbst bei R0-Resektion noch auf die Risikoklassifikation, die den Differenzierungsgrad miteinschließt. Demnach müssen nur high-risk-Tumoren (pT1, G3, G4 oder L1) auf Grund der hohen Lymphknotenmetastasierungsraten einer radikalen chirurgischen Therapie unterzogen werden. Die alleinigen Kontrollendoskopien nach 6, 24 und 60 Monaten sind bei low-risk-Situationen die Therapie der Wahl (37).

2.11.1.3 Chirurgie bei genetisch bedingten Karzinomen

Wie bereits in Kapitel 2.4.3.1 erwähnt, gilt die FAP als absolute Indikation für eine Kolektomie. Hierbei wird das Ileum rund 20 cm oral der Bauhin-Klappe mit dem Rektum anastomosiert und ein Ileo-Analer-Pouch angelegt. Im Vergleich dazu wird beim HNPCC wie bei sporadischen Karzinomen vorgegangen. Bei der Colitis ulcerosa wird nach jahrelanger medikamentöser Therapie ein chirurgisches Vorgehen oft im Rahmen eines Notfalles eingeleitet, bei der elektiven Therapie hingegen handelt es sich um die restaurative Proktokolektomie mit der Anlage eines Ileostomas (37).

2.11.1.4 Chirurgie von Fernmetastasen

Die chirurgische Behandlung von Leber- und Lungenmetastasen stellt unter bestimmten Voraussetzungen die einzige Heilungschance für PatientInnen eines kolorektalen Karzinoms dar, sie ist in Bezug auf Überlebenszeit und Lebensqualität noch immer allen anderen Therapieoptionen überlegen.

Rund 10% aller PatientInnen, die Lebermetastasen entwickeln, erfüllen die Kriterien einer Operation, ein Viertel der Metastasen ist resezierbar (17,37).

Prinzipiell liegen folgende drei Ziele einer Resektion zu Grunde:

- Kurative Therapie bei mono- und oligotopen Fernmetastasen
- Tumorreduktion in Kombination mit adjuvanter oder neoadjuvanter Chemotherapie, da bei geringerer Masse des Tumors bessere Wirkungen erzielt werden können
- Palliative Therapie zur Linderung der Symptomatik meist in Kombination mit Chemo- und/oder Hormontherapie (17)

Operationsindikation mit kurativem Therapieziel

Bei synchroner (gleichzeitig mit Primärtumor festgestellter) Metastasierung

- Kurativ operabler Primärtumor
- Keine diffuse Metastasierung im betroffenen Organ
- Keine bzw. höchstens eine weitere Metastase in anderem Organ.

Bei metachroner (im Rahmen der Nachsorge festgestellter) Metastasierung

- Bereits kurativ operierter Primärtumor
- Kein bzw. kurativ operiertes Lokalrezidiv.

Werden nun diese Voraussetzungen eingehalten und extrahepatische Metastasen ausgeschlossen, besteht bei R0-Resektion eine Heilungschance von bis zu 20% (17,37).

Abhängig von der Lokalisation, Größe und Anzahl der Tumoren, als auch von der Leberfunktion und der Belastbarkeit der PatientInnen, kommen unterschiedliche Operationstechniken bei der Entfernung der Metastasen zum Einsatz. Keil- bzw. Segmentresektionen, die Hemihepatektomie oder Trisegmentektomie werden durchgeführt. Bei Keil- und Segmentresektionen wird die Operationsletalität mit 0 bis 4% angegeben, bei Lappenresektionen mit 6 bis 10% (37). Die *Oncosurge-Strategie nach Poston et al.* bietet den Therapeuten hierbei eine gute Möglichkeit zur Entscheidungsfindung (38). Von Lebertransplantationen wird im Falle einer Metastasenleber dringend abgeraten, da die Rezidivneigung unter Immunsuppression noch viel zu hohe Zahlen aufweist (37).

Postoperativ hängen Rezidivrisiko und Überlebenschance von Faktoren wie Alter der PatientInnen und dessen CEA-Spiegel, sowie dem Stadium des Primärtumors ab. Anzahl und Durchmesser der Lebermetastasen, die Resektionsgrenzen und das krankheitsfreie Intervall sind von ebenso großer prognostischer Relevanz.

Lokale Rezidive treten beim Kolonkarzinom im Unterschied zum Rektumkarzinom äußerst selten auf. Da vor allem Anastomosenrezidive gut behandelbar sind, ist eine konsequente Nachsorge lebensentscheidend (18).

Chemotherapie

Bezüglich neoadjuvanter (präoperativer) Chemotherapie ist bereits bekannt, dass mit großer Wahrscheinlichkeit der Anteil der R0-Resektionen gesteigert werden kann. Bei PatientInnen mit resektablen Lebermetastasen erhöht die perioperative Kombinations-Chemotherapie (3 Monate vor und 3 Monate nach der Operation) außerdem das progressionsfreie Überleben. (39)

Kommt es nun zum Auftreten eines Leberrezidives mehrere Monate nach der Primärresektion, wird nach definitivem Ausschluss extrahepatischer Metastasen ein erneuter Eingriff nach vorangegangener Chemotherapie in Betracht bezogen. (17).

2.11.2 Strahlentherapie

Das kolorektale Karzinom ist nur schwach strahlensensibel und benötigt daher, um überhaupt eine Wirkung zu erzielen, sehr hohe Dosen. Zusätzlich erschweren die äußerst geringe Toleranz der Nachbarorgane, vor allem des Dünndarms, diese Therapieform beträchtlich. Bei bereits metastasierten Tumoren wird von einer Bestrahlung auf Grund der Nebenwirkungen ebenfalls abgesehen. Während die Radiatio beim Kolonkarzinom keinen wesentlichen Einfluss auf Überlebenszeiten bewirken konnte, gilt sie hingegen beim Rektumkarzinom, neoadjuvant oder adjuvant, zusätzlich zur Chemotherapie, als Goldstandard (17).

2.11.3 Chemotherapie

In den letzten Jahren konnten durch die adjuvante (postoperative) Therapie beim Kolonkarzinom im UICC-Stadium III klare Verbesserungen der 5-Jahresüberlebensraten erzielt werden (16). Dennoch muss die Einleitung einer Chemotherapie wegen ihrer zytotoxischen Wirkung stets unter Berücksichtigung aktuellster Studienergebnisse erfolgen (17). Auf Indikationen der einzelnen Chemotherapeutika und die Substanzen selbst möchte ich in den folgenden Kapiteln näher eingehen.

2.11.3.1 Indikationen

Laut den aktuellsten *S3-Leitlinien der deutschen Krebsgesellschaft (DKG) 2004/2008* ist die Indikation zur postoperativen Chemotherapie prinzipiell ab dem UICC-Stadium III (T1-4, N1-2, M0) gesichert, sofern keine Kontraindikationen gegen diese bekannt sind (40,41). Auf das Alter allein sollte der Entschluss keinesfalls zurückgeführt werden, da PatientInnen jenseits des 70. Lebensjahres ebenso von einer adjuvanten Chemotherapie rund sechs Wochen nach der Tumorresektion profitieren (42).

Bei PatientInnen im Stadium II wird der Therapieentscheid individuell gestellt. Hierbei müssen Risikofaktoren berücksichtigt werden, die gegebenenfalls für eine Chemotherapie sprechen würden.

Nach den neuen *ESMO-Guidelines 2010*, haben folgende PatientInnen im Stadium II ein erhöhtes Risiko: (43)

- Evaluierte Lymphknoten < 12
- Schlecht differenzierter Tumor
- Lymphovaskuläre und perineurale Invasion
- Obstruktion bzw. Ileus
- Tumorperforation bzw. pT4-Stadium

Musste der Patient bzw. die Patientin einer Notfallsoperation unterzogen werden, sollte eine adjuvante Therapie ebenso empfohlen werden (40).

Besteht eine Aussicht auf Heilung, also nach erfolgreicher Resektion der Metastase in sano, ist nach heutiger Sicht eine anschließende Chemotherapie die Therapie der Wahl. (44)

Bei PatientInnen in einem fortgeschritteneren Stadium wird generell eine Chemotherapie in Erwägung gezogen. Die folgenden Kriterien sollen auch bei möglicher Zweitoperation dabei helfen, das optimale Therapieschema auszuarbeiten:

- ◆ Therapieziel: kurativ oder palliativ
- ◆ Allgemeinzustand der PatientInnen
- ◆ Art der Metastasierung
- ◆ Begleiterkrankungen
- ◆ Zulassungen der Chemotherapeutika bei Kombinationstherapien (17)

2.11.3.2 Zytostatika zur Behandlung des Kolonkarzinoms

5-Flourouracil/Folinsäure

Das beim Kolonkarzinom am häufigsten eingesetzte Chemotherapeutikum heißt 5-Flourouracil (5-FU). Es zählt zur Gruppe der Antimetabolite und wird bei der Zellteilung, auf Grund der großen Strukturähnlichkeit mit den Purin- und Pyrimidinbasen, in die RNA und DNA als falsches Nukleotid eingebaut. Der hierbei entstehende Komplex ist jedoch weder stabil noch funktionsfähig. Zusätzlich hemmt 5-FU die Thymidylatsynthase, ein Schlüsselenzym der Pyrimidin-Biosynthese. Somit wird die Umwandlung von Desoxyuridinmonophosphat in den wichtigen DNA-Baustein Desoxythymidinmonophosphat blockiert und weiters die Synthese von DNA und RNA gehemmt.

Die zytotoxische Wirkung von 5-FU kann durch die Gabe mit Folinsäure (FA) verstärkt werden und ist mittlerweile die Standardvorgehensweise zur Behandlung des Kolonkarzinoms (*Mayo-Protokoll*) (45). Es muss alle zwei Wochen parenteral appliziert werden, als Infusion über zwei Stunden oder als einmaliger Bolus. Die Behandlungsdauer beträgt mindestens sechs Monate (41,46).

Für gewöhnlich ist die Therapie gut verträglich, dennoch sind, wie bei jeder Chemotherapie, auch bei 5-FU/FA erhebliche unerwünschte Wirkungen zu erwarten: (41,45)

- Akute Kardiotoxizität mit Arrhythmien, Ischämien und Myokardinfarkt (47)
- Dosislimitierende Knochenmarksdepression
- Schleimhautentzündungen des gesamten Gastrointestinaltrakts
- Übelkeit und Erbrechen, Diarrhoe
- Unspezifische Schmerzen und Appetitlosigkeit, metallischer Geschmack
- ZNS-Veränderungen wie Somnolenz und Verwirrtheit
- Reversible zerebelläre Störungen wie Ataxie, Müdigkeit und Sprachstörungen
- Erhöhtes Infektionsrisiko

- Blutgerinnungsstörungen
- Hautveränderungen und Hyperpigmentierung, Haarverlust
- „Hand-Fuß-Syndrom“ (Rötung und schmerzloses Ablösen der Haut an Hand- und Fußinnenflächen)
- Konjunktivitis und vermehrter Tränenfluss

Rund 1% der PatientInnen leidet an dem Mangel des Enzyms Dihydropyrimidin-Dehydrogenase (DPD), welches für den natürlichen Abbau von 5-FU verantwortlich ist. Nun kommt es jedoch in diesem Falle zu erhöhten Plasmaspiegeln und einer damit verbundenen drastischen Toxizität der Substanz. Massive Durchfälle, Schädigungen des Knochenmarks bis hin zur schweren Komplikation einer Sepsis wurden bereits beobachtet. Bei Auftreten dieser Symptomatik muss umgehend eine stationäre Therapie eingeleitet werden. Eine sog. DPD-Aktivitätsmessung zur Früherkennung wurde bereits entwickelt, nichtsdestotrotz ist sie wegen des seltenen Auftretens der Mutation noch nicht verbreitet. (17)

Capecitabin

Capecitabin (Handelsname Xeloda®), ein Fluoropyrimidin-Carbamat, gilt als sog. „Prodrug“, eine chemische Vorstufe des bekannten 5-Fluorouracil (47). Das Medikament wird zweimal täglich oral appliziert und rasch vom Gastrointestinaltrakt aufgenommen. In der Leber hydrolisiert und mittels Thymidinphosphorylase im Tumor selbst in seine aktive Form umgewandelt, kann eine gleiche Wirksamkeit mit 5-FU nachgewiesen werden. Unterschiede bezüglich Überlebenszeiten wurden nicht beschrieben, durch die einfache Tabletteneinnahme ist die Lebensqualität der PatientInnen jedoch signifikant verbessert. (45) Auf Grund des zielgerichteten Mechanismus und der daraus folgenden Anreicherung im Tumorgewebe wird diese Form von PatientInnen besser vertragen und das Nebenwirkungsspektrum minimiert. Die typische Stomatitis bzw. Übelkeit und Erbrechen treten seltener auf, ebenso der Haarausfall. Das „Hand-Fuß-Syndrom“ spielt jedoch bei der Behandlung mit

Capecitabin eine größere Rolle. Eine gravierende Symptomatik konnte bereits beobachtet werden, von leichten Parästhesien bis hin zu starken Schmerzen und Ulzerierung an Handinnenflächen und Fußsohlen (40). Kortisonhaltige Fettsalben, eventuell in Kombination mit Vitamin-B-haltigen Salben, werden hierbei empfohlen (17).

Oxaliplatin

Oxaliplatin (Handelsname Eloxatin®) wird in Kombination mit 5-FU/FA standardgemäß zur Behandlung des Kolonkarzinoms im UICC-Stadium III intravenös verabreicht. (*FOLFOX-Schema*) Es zählt wie Cisplatin und Carboplatin zu den Platinverbindungen und wird im Körper durch H₂O in seine aktive Form umgewandelt. Die nur im Oxaliplatin enthaltene Diaminocyclohexan-Gruppe (sog. DACH-Gruppe) geht Inter- und Intrastrang-Quervernetzungen mit der DNA ein und hemmt somit deren Synthese nachhaltig. Verglichen mit Cis- und Carboplatin weist Oxaliplatin ein anderes Aktivitätsspektrum auf, was durch eine fehlende Interaktion mit dem sog. DNA-Mismatch-Repair-System erklärt wird. Jene Störungen würden bei der Behandlung mit Cisplatin zu Resistenzen führen, durch Oxaliplatin allerdings konnten die Ansprechraten auf ein Vielfaches erhöht werden. (45,48) Oxaliplatin wird viel besser vertragen als Cis- und Carboplatin. Zu den häufigen Nebenwirkungen zählen Übelkeit, Erbrechen und Durchfälle, sowie Veränderungen des Blutbilds. Dosislimitierend ist jedoch in diesem Fall die Neurotoxizität. Eine sensorische periphere Neuropathie mit Parästhesien und Überempfindlichkeit der Finger und Zehen muss erwartet werden. Sie ist meist nur von vorübergehender Dauer und bessert sich mit Ende der Behandlung, kann aber unter Umständen auch bleibende Nervenschädigungen mit sich ziehen. (46,48)

2.12 Nachsorge

Die Bedeutung der Tumornachsorge ist einerseits vom UICC-Stadium des Karzinoms, andererseits vom generellen Ansatz der Therapie abhängig.

Konnte eine Resektion des Tumors in sano erreicht werden, ist im Sinne einer bestmöglichen Früherkennung von Lokalrezidiven bzw. Lebermetastasen ein durch mehrere Studien belegtes Nachsorgeschema dringend anzuraten. Dies gilt jedoch nur für Tumoren der UICC-Stadien II und III, da das Risiko eines Rezidives in den fortgeschritteneren Stadien als beträchtlich höher einzustufen ist. Im Stadium I sind derartige Nachsorgemaßnahmen nur in bestimmten Einzelfällen indiziert. (17,18)

Den *S3-Leitlinien der Deutschen Krebsgesellschaft (DKG) 2004/2008* zufolge werden in den ersten drei Jahren eine ausführliche Anamnese, der klinische Status, die Bestimmung des Carcino-Embryonalen-Antigens (CEA) und eine Sonographie des Abdomen in sechsmonatigen Abständen empfohlen. Anschließend sind diese Untersuchungen nur mehr im 48. und 60. Monat durchzuführen. Liegt kein vollständiger präoperativer Koloskopiebefund vor, sollte diese im sechsten Monat postoperativ nachgeholt werden. Anderenfalls ist die Kontrollkoloskopie im 30. Monat zu veranlassen, welche bei einem Normalbefund nach weiteren drei Jahren zu wiederholen ist. (18)

Die *American Society of Clinical Oncology (ASCO)* gab im Jahre 2005 eine Überarbeitung ihrer Leitlinien heraus, welche der Bildgebung einen höheren Stellenwert zusprach. Demnach sind eine Computertomographie von Thorax und Abdomen jährlich für einen Zeitraum von drei Jahren vorgesehen. Voraussetzungen hierfür sind allenfalls die Tauglichkeit der PatientInnen für eine Sekundäroperation oder eine gegebenenfalls weiterführende Chemotherapie. Der körperlichen Untersuchung sowie der Bestimmung des CEA müssen sich die PatientInnen dreimonatlich unterziehen. Die Koloskopie wird nach drei Jahren angeraten, welche bei einem unauffälligen Befund anschließend alle fünf Jahre wiederholt werden soll. (49)

Im Rahmen einer palliativen Chemotherapie sollten lediglich die Toxizität und das Ansprechen der Therapie überprüft werden. Laborparameter wie die LDH und die Abdomensonographie dienen hierzu, das Thoraxröntgen ist dem aufwendigeren MRT bzw. CT außerhalb von Studien vorzuziehen. Ist ein sekundärer Kurationsansatz gegeben, sind die Kontrollen in kürzeren Abständen durchzuführen. (17)

2.13 Prognose

Unter allen bestehenden Tumorentitäten befindet sich das kolorektale Karzinom europaweit im mittleren Prognosebereich. Die 5-Jahresüberlebensraten liegen bei rund 50%, wobei diese drastisch vom Tumorstadium abhängen. Während die Heilungschance im UICC-Stadium I bis zu 95% und im Stadium II noch 80% beträgt, werden im Stadium III rund 60% der PatientInnen geheilt. Eine komplette Tumorremission ist im fortgeschrittenen Stadium IV mit 5% kaum zu erwarten.

Bei rund der Hälfte aller PatientInnen treten Metastasen der Leber auf, in ungefähr 25% der Fälle bereits bei Diagnosestellung. PatientInnen, die ausschließlich Lebermetastasen entwickeln, weisen einen prognostisch günstigeren Verlauf ihrer Erkrankung auf. Ebenso ist die Präzision der ChirurgInnen maßgeblich am Outcome der Krebserkrankung beteiligt. (17,37)

2.13.1 Prognoseparameter

Das beste Hilfsmittel zur Beurteilung der Prognose bei Tumorerkrankungen stellt das TNM-System dar. Eine exakte Stadieneinteilung und vergleichende Studien ermöglichen gute Prognoseabschätzungen. Die Anzahl der befallenen Lymphknoten ist hierbei ein wesentlicher Parameter. Um eine eindeutige Aussagekraft zu gewährleisten, müssen intraoperativ 12 Lymphknoten entnommen und histopathologisch auf Tumorgewebe untersucht werden. Ebenso weiß man, dass bei einer größeren Anzahl an untersuchten Lymphknoten das Überleben der PatientInnen besser eingeschätzt werden kann. Ab einem Ausmaß

von 20 Lymphknoten ist die Prognose deutlich erhöht (17,18).

Bewirkt der Primärtumor eine Darmobstruktion oder Perforation, werden umliegende Organe befallen oder ganze Leitungsbahnen infiltriert, so ist dies von negativer prognostischer Relevanz. Eine große Rolle spielt auch der Differenzierungsgrad, denn low-grade-Karzinome (G1 und G2) haben im Vergleich zu high-grade-Karzinomen (G3 und G4) eine bessere Prognose. Selbiges gilt für das Überleben beim HNPCC. Bei Metastasierung beträgt das mittlere Überleben ohne Behandlung im Schnitt drei bis sechs, im Einzelfall bis zu zwölf Monate. (16,17,18)

Die nachfolgenden klinischen Parameter sprechen bei 5-Fluorouracil/Folinsäure-Therapieschemata für eine schlechtere Prognose:

- Erhöhte Leukozytenzahl > 10 000
- Erhöhte LDH und alkalische Phosphatase
- Erniedrigter Hb-Gehalt
- 2 oder mehr Metastasenlokalisationen
- Schlechter Allgemeinzustand

Jene PatientInnen, die diese Parameter erfüllen, profitieren im Gegensatz dazu besonders von Kombinationstherapien mit gezielten Therapieformen, den sog. „targeted therapies“ (16). Zu diesen zählt vor allem die Krebsimmuntherapie mit monoklonalen Antikörpern.

2.13.1.2 Molekulare Marker

Seit der 5-FU/FA-Ära konnten einige molekulare Marker hinsichtlich ihres prognostischen und prädiktiven Stellenwertes untersucht werden:

- Verlust der Heterozygotie am Chromosom 18q

- p53- und K-Ras-Mutation
- Mikrosatelliteninstabilität
- Polymorphismen des Thymidilinstoffwechsels

Kombinationen dieser Marker erlauben heute gute Abschätzungen über das 5-Jahres-Überleben unabhängig von den einzelnen Chemotherapien (17).

3 Vitamin-D-Rezeptor

3.1 Vitamin D

In der großen Gruppe der D-Vitamine oder Calciferole lassen sich mehrere Substanzen voneinander unterscheiden, Calcitriol als der wirksame Metabolit gilt als die bedeutendste unter ihnen. Als wesentlicher Faktor ist es an der Kalzium- und Phosphathomöostase des Menschen beteiligt, insbesondere durch die Aufnahme über den Dünndarm und die Ausscheidung durch die Nieren. (50)

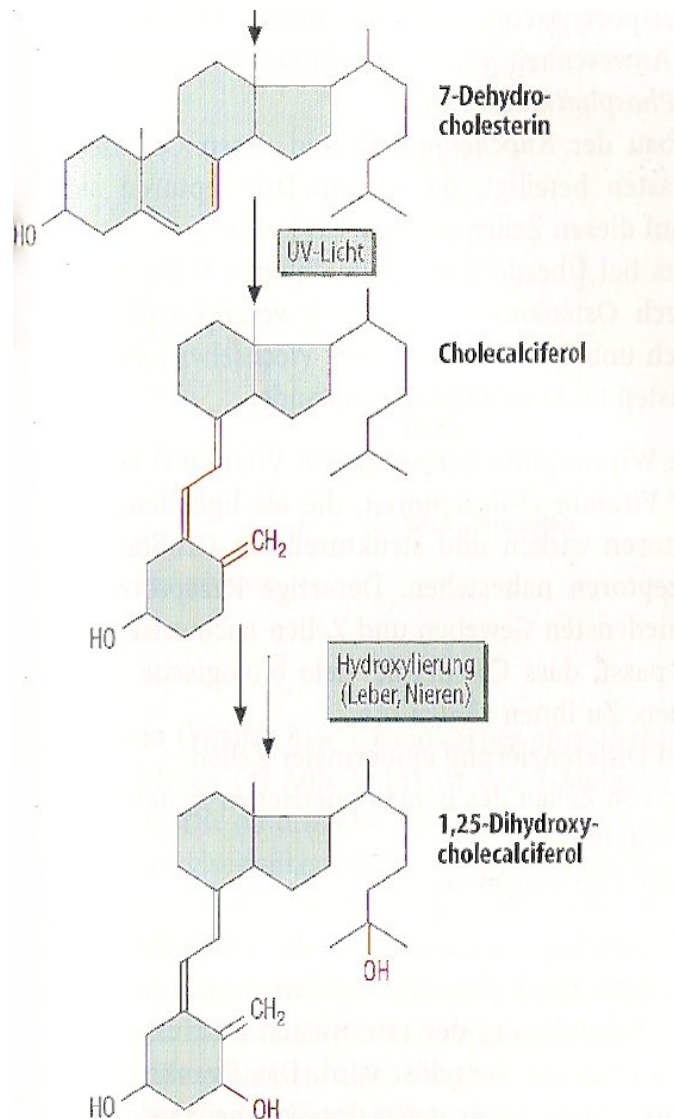
Die Bezeichnung *Vitamin* stammt noch aus jener Zeit, in der man annahm, dass der menschliche Körper selbst nicht in der Lage sei, es zu produzieren und man auf die Versorgung durch die Nahrung angewiesen wäre. Diese Tatsache konnte allerdings bereits widerlegt werden. Heute weiß man, dass die meisten Wirbeltiere die Vorstufen von Calcitriol eigens produzieren können, der Name ist auf Grund seiner Geschichte dennoch in Verwendung. (51) Calciferole weisen eine strukturelle Verwandtschaft mit den Steroidhormonen auf, sie entstehen aus ihren Vorstufen, den Provitaminen 7-Dehydrocholesterin und Ergosterin, eine ausreichende Ultraviolettbestrahlung der Haut ist für die weiteren Reaktionen dennoch von entscheidender Bedeutung. (52) Die biochemischen Wirkungen von Vitamin D basieren auf der Präsenz seiner Rezeptoren, den Vitamin-D-Rezeptoren (VDR) (51,52).

3.1.1 Vitamin-D-Biosynthese

Die Synthese von Calcitriol im Speziellen verläuft über mehrere Reaktionsschritte, den Ausgangspunkt hierfür stellt die Leber dar. Dorthin gelangt das Cholesterin, welches das Grundgerüst bildet, über den Blutweg und ist hierbei im Plasma stets an ein Glykoprotein gebunden, das Vitamin-D-bindende Protein (DBP).

In der Leber angelangt wird aus dem Cholesterin das 7-Dehydrocholesterin, unter Katalyse der Cholesterin-Dehydrogenase. (51) Dieses wird vor allem im Stratum spinosum und Stratum basale der Haut gespeichert (53). Unter konstanter

Einwirkung von UV-B-Strahlung bei einer Wellenlänge von 290-320 nm wird nun das Aufbrechen des B-Rings des Steranskeletts ermöglicht. Das instabile Prävitamin D₃ entsteht und wandelt sich spontan in sein Isomer, das Cholecalciferol bzw. Vitamin D₃, um. (54)



11. Abbildung: Vitamin-D-Biosynthese nach Löffler (52)

Das wenig aktive Cholecalciferol muss in weiterer Folge zurück zur Leber gelangen, wiederum an das DBP gebunden. Ebendort erfolgt die erste

Hydroxylierung an Position 25 zu 25-Hydroxy-Cholecalciferol. Um schließlich als aktive Form wirksam agieren zu können, bedarf es des letzten Schrittes in den Nieren, der zweiten Hydroxylierung an Position 1.

Das Ergebnis der langen Kette an Reaktionen ist infolgedessen das Calcitriol, 1,25-Dihydroxy-Cholecalciferol. (51,52) Jenes hierfür verantwortliche Enzym, die 1- α -Hydroxylase, unterliegt dem Parathormon, welches in den Nebenschilddrüsen gebildet wird und gemeinsam mit dem Calcitonin und dem Calcitriol den Kalziumspiegel des Serums reguliert. (51)

Wie bereits besprochen, kann die Vitamin-D-Biosynthese auch über einen zweiten Ausgangsstoff erfolgen. Das hierfür benötigte Ergosterin ist, analog zur oben geschilderten Synthese, ebenso auf Sonnenlicht angewiesen und muss hydroxyliert werden, bevor es als aktives Calcitriol tätig wird. Die Vorstufe in diesem Fall ist das Ergocalciferol, auch Vitamin D₂ genannt. Im Unterschied zu seinem verwandten Cholecalciferol muss dessen Grundgerüst zwingend durch die Nahrung aufgenommen werden. (51) Das pflanzliche Ergosterin gilt als Bestandteil der Zellmembran von Pilzen und Mykoplasmen. (55)

3.1.1.1 Regulation der Biosynthese

Niedrige Kalzium- und Phosphatspiegel im Blut aktivieren die Calcitriol-Synthese, erhöhte Spiegel hemmen diese rasch. Dieser Vorgang wird als negative Rückkopplung bezeichnet. (51) Ebenso hemmt das Vitamin D selbst die 1- α -Hydroxylase und somit seine Überführung in die aktivierte Form. Der Gegenspieler, die 24-Hydroxylase, unterstützt dies durch dessen vermehrten Abbau. Sie wird vor allem von Phosphat stimuliert. (56)

3.1.1.2 Abbau

Die Ausscheidung von Calcitriol erfolgt über die Galle, über den enterohepatischen Kreislauf verbleibt jedoch ein großer Anteil als Speicher im Körper bestehen. Je

nach Stadium weist Vitamin D unterschiedliche Halbwertszeiten auf, jene von Calcitriol beträgt rund drei bis fünf Stunden. (51) Da die Halbwertszeit von 25-Hydroxy-Cholecalciferol mit zwei bis drei Wochen die längste darstellt, wird bei der Überprüfung des Vitamin-D-Status diese Stufe gemessen. (56)

3.2 Funktionen des Vitamin D

3.2.1 Biochemischer Wirkmechanismus

Um biochemisch als Hormon wirksam zu werden, ist das Vitamin D auf seinen Rezeptor angewiesen. Der Vitamin-D-Rezeptor gehört der großen Gruppe der Steroidrezeptoren an und ist im Cytosol verschiedenster Zellen lokalisiert (51,52). Bindet nun Vitamin D an dieses Rezeptorprotein, wird es in den Zellkern geschleust und verschmilzt mit dessen DNA. Daher wird der Rezeptor als ligandenaktivierter Transkriptionsfaktor bezeichnet. Er vermag auf diese Weise verschiedenste Gene zu aktivieren bzw. zu inhibieren. (51) Der favorisierte Ligand des VDR ist das Calcitriol, 1,25-Dihydroxy-Cholecalciferol, da es eine hundertfach größere Affinität zum Rezeptor aufweist als das 25-Hydroxy-Cholecalciferol. Auf Grund der Tatsache, dass die Expressierung von Vitamin-D-Rezeptoren auf den unterschiedlichsten Geweben des Organismus dokumentiert werden konnte, erklärt sich auch das mannigfaltige Wirkungsspektrum des Hormons. (52)

3.2.2 Wirkungen

Der bis heute meist untersuchte Einfluss des Vitamin D gilt der Aufrechterhaltung des Plasmakalziumspiegels. Hierfür spielen jene vier klassischen Zielorgane des Calcitriol eine bedeutende Rolle:

- Darm
- Nieren
- Knochen
- Nebenschilddrüsen (50)

Weiters weiß man bereits seit Jahren von der Präsenz der Vitamin-D-Rezeptoren in vielen anderen Organen. Das Pankreas, die Haut und ihre Anhangsgebilde, Nerven- und Muskelgewebe und vor allem unsere Blut- und Immunzellen obliegen bis zu einem gewissen Grad den Wirkungen des Calcitriol. Hinzu kommt sein enormer Einfluss auf die Plazenta und den Embryo (57).

3.2.2.1 Wirkungen auf den Darm

Die enterale Kalzium- und Phosphataufnahme wird durch Vitamin D gesteigert. Durch die vermehrte Expression von Kalziumtransportsystemen in den Zellen der Darmschleimhaut wird die Kalziumaufnahme angeregt. (52) Kalziumkanäle werden geöffnet und ermöglichen den Ionen den Einstrom ins Innere der Zelle, wo sie an die Kalzium-bindenden Proteine andocken. An der basolateralen Membran erfolgt schließlich der Austritt ins Blut, unter ständigem Tausch eines Natriums. Parathormon stimuliert diese Prozesse, das hierbei entstandene freie Kalzium hemmt wiederum seine Ausschüttung. Die intestinale Phosphatresorption konnte noch nicht ausführlich erklärt werden. (50)

3.2.2.2 Wirkungen auf den Knochen

An der Knochenmatrix ist eine verstärkte Mineralisierung zu beobachten. Diese Kalzifizierung kommt einerseits durch die Stimulierung der knochenaufbauenden Osteoblasten zustande, welche, im Gegensatz zu den knochenabbauenden Osteoklasten, mit dem Vitamin-D-Rezeptor ausgestattet sind. Andererseits wird die vermehrte Bildung von Hydroxylapatitkristallen durch den Ausfall des enteral vermehrt aufgenommenen Phosphat begünstigt. (50,52) Am Beispiel der kindlichen Rachitis können die Auswirkungen des Vitamin-D-Mangels auf den Knochen aufgezeigt werden, eine Demineralisierung ist die Folge (s.u.) (51,53). Bei einer meist iatrogen verursachten Vitamin-D-Überdosierung kommt es hingegen ebenso zu einer Entkalkung des Knochens. Die Mobilisierung von Kalzium aus dem Knochen heraus beruht auf der vermehrten Osteoklasten Tätigkeit, die jene Anordnung höchstwahrscheinlich von den Osteoblasten erhalten. (15)

3.2.2.3 Wirkungen auf die Nieren

Vitamin D minimiert die renale Ausscheidung von Kalzium und Phosphat. Dies erfolgt in Abhängigkeit vom Parathormon (50). Darüber hinaus reguliert sich das Calcitriol selbst durch seine Hydroxylierung in der Niere. Die 1- α -Hydroxylase und die 24-Hydroxylase werden, je nach Vitamin D Bedarf, down- bzw. up-reguliert (15).

3.2.2.4 Wirkungen auf die Nebenschilddrüsen

Das Peptidhormon PTH (Parathormon) wird in den Nebenschilddrüsen gebildet. Seine Funktion besteht ebenso in der Aufrechterhaltung eines konstanten Plasmakalziumspiegels (50). Es wird bei einem Abfall von Kalzium verstärkt sezerniert, ebenso hat der Vitamin-D-VDR-Komplex einen direkten Einfluss auf die Transkription des für das PTH kodierende Gen (55).

3.2.2.5 Wirkungen auf das Immunsystem

Die Beobachtungen der letzten Jahre hinsichtlich der biologischen Aktivität von Vitamin D ließen Rückschlüsse auf dessen vielfältige Aufgaben im menschlichen Körper zu. Neben den klassischen Einflüssen auf den Kalziumhaushalt, spielt es eine große Rolle im Immunsystem. Da der Vitamin-D-Rezeptor in den unterschiedlichsten Immunzellen wie den T-Lymphozyten und den antigenpräsentierenden Zellen exprimiert ist, sind diese auch in der Lage, das aktive Calcitriol zu synthetisieren. (58) Die Modulation der Immunantwort ist die Folge (52). Ebenso bestätigt die Regulation der Autophagozytose die anti-inflammatorische Wirkung von Vitamin D (59). Die Zytokinproduktion vieler Immunzellen wird von Vitamin D reguliert, was einen Zusammenhang von Vitamin-D-Mangel und Autoimmunerkrankungen wie Typ I Diabetes oder Multipler Sklerose erklärt (54). Selbiges gilt für rheumatologische Erkrankungen (53). In Anbetracht dieser Tatsachen dürfte Calcitriol in Bezug auf Prävention und Behandlung dieser Krankheiten eine immer größer werdende Rolle spielen (54).

3.2.2.6 Wirkungen auf die Haut

Viele Funktionen der Haut stehen unter den Einwirkungen von Vitamin D bzw. dem Vitamin-D-Rezeptor. Zu diesen zählen die Hemmung der Proliferation der Epidermis und der Tumorentstehung, die Stimulierung der Zelldifferenzierung gesunder Keratinozyten und der Zyklus der Haarfollikel. (61) Bei PatientInnen, die an Psoriasis erkrankt sind, wirkt sich die antiproliferative Wirkung von Vitamin D demnach günstig auf das Überschießen der hornbildenden Zellen aus (57).

3.2.2.7 Wirkungen auf das kardiovaskuläre System

Die Zusammenhänge von Vitamin-D-Mangel und dem Auftreten des metabolischen Syndroms stehen im großen Interesse der heutigen Forschung. Der Einfluss von Calcitriol auf den Blutdruck konnte bereits durch Studien belegt werden (62). Ihm liegt das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System zu Grunde, da Renin bei einer geringeren Vitamin-D-Wirkung aktiviert wird (57). Die Gabe von Vitamin D bei RisikopatientInnen muss nichtsdestotrotz noch ausführlicher belegt werden, da ein direkter unabhängiger Zusammenhang zwischen Vitamin-D-Mangel und kardiovaskulären Erkrankungen noch nicht eindeutig bewiesen werden konnte (63).

3.2.2.8 Wirkungen auf das neuromuskuläre System

Muskelzellen enthalten in ihrem Cytosol Vitamin-D-Rezeptoren, der Serumspiegel von Calcitriol korreliert mit der körperlichen Belastung (54). Auffallend ist dies bei der Rachitis, wo eine verminderte Vitamin-D-Konzentration mit einer Atrophie des Muskels einhergeht (57). Chronische Schmerzsyndrome des muskuloskelettalen Apparates können ebenso mit einem Vitamin-D-Mangel in Verbindung gebracht werden (64). Bei Neuronen und Gliazellen bewirkt Vitamin D eine vermehrte Ausschüttung neurotroper Wachstumsfaktoren (57).

3.2.3 Einflüsse während der Schwangerschaft

Während einer Schwangerschaft müssen größere Mengen an Vitamin D gedeckt werden als gewöhnlich. Viele Wachstumsprozesse des Embryos sind auf Vitamin D angewiesen, was vor allem das anschauliche Beispiel der Hypovitaminose mit ihren schwerwiegenden Folgen hinsichtlich des Knochenaufbaus zur Schau stellt. Zusätzlich wird die Zytokinproduktion und Immunantwort im Mutterleib von Vitamin D beeinflusst. (65) Bei der Frau steht ein erhöhtes Komplikationsrisiko während der Schwangerschaft wie Diabetes, Insulinresistenz und Präeklampsie möglicherweise in direktem Zusammenhang mit einer Vitamin-D-Unterversorgung. (66)

3.2.4 Beeinflussung der Karzinogenese

Calcitriol weist auf Tumorzellen eine antiproliferative Wirkung auf, Entartungen können durch das Einleiten der Apoptose verhindert werden. Eine klare Relation hinsichtlich der Sonnenlichtexposition und dem Auftreten einer Vielzahl von Karzinomen ist bereits bestätigt, ein Mangel an Vitamin D erhöht das Risiko für Mamma-, Prostata-, Ovarial- und Kolonkarzinomen, um hier nur einige zu nennen. (67) Die Stimulierung des Immunsystems selbst unterstützt die tumorprotektive Wirkung (59). Ebenso kann bestimmten genetischen Varianten des Vitamin-D-Rezeptors ein eindeutiger Zusammenhang zur Karzinomentstehung nachgesagt werden (68).

3.3 Vitamin-D-Mangel

Das Vorkommen von Vitamin D in der Nahrung ist auf einige wenige Quellen begrenzt, Lebertran stellt hierbei eine Besonderheit dar. Das aus Fettfischen gewonnene Öl enthält große Mengen an Cholecalciferol, welches der Körper schließlich zu dem aktiven Calcitriol umwandelt. (51) Menschen, die zusätzlich einer nicht ausreichenden Sonneneinstrahlung ausgesetzt sind, sind, auf Grund der reduzierten körpereigenen Biosynthese, prädisponiert, einen Vitamin-D-Mangel zu entwickeln. Für den Knochen bedeutet dies eine Minderkalzifizierung,

die kindliche Rachitis ist die Folge. Ein Calcitriol-Mangel nach dem Verschließen der Wachstumsfugen führt beim Erwachsenen zur Osteomalazie. (50,15)

Die Rolle des Vitamin D in Anbetracht auf Gefühlslagen konnte noch nicht hinreichend bewiesen werden. Dennoch werden geringe Calcitriol-Spiegel bei PatientInnen, die an Depressionen leiden, vermehrt gemessen (69). Vor allem bei der älteren Bevölkerung stellt die Kombination aus Osteoporose, depressiver Grundstimmung und Sturzneigung ernstzunehmende Komplikationen dar (70).

Die Vielfalt der Symptomatik bei einem Mangel an Vitamin D lassen sich von den unzähligen Wirkungen des Hormons ableiten.

3.4 Vitamin-D-Rezeptor

1,25-Dihydroxy-Cholecalciferol ist, um in Wirkung treten zu können, auf seinen intrazellulären Rezeptor, den Vitamin-D-Rezeptor, angewiesen. Das Gen für diesen Rezeptor ist am langen Arm des Chromosom 12 lokalisiert, an Position 12q12-14. Es beinhaltet zwei Promotorregionen, elf Exons mit Introns und macht eine Größe von rund 75 kb der DNA aus. Die Exons 1A, 1B und 1C befinden sich im nicht-kodierenden 5'-Ende, die acht weiteren Exons 2 bis 9 im kodierenden Genabschnitt. (71)

Wirksam als Transkriptionsfaktor, ist der Vitamin-D-Rezeptor in eine Unzahl von biologischen Prozessen wie Zellwachstum und Differenzierung involviert, Sequenzvarianten dieses VDR-Gens konnte bereits mit der Entstehung von vielen Tumorerkrankungen in Zusammenhang gebracht werden (s.u.) (6).

3.5 Vitamin-D-Rezeptor-Polymorphismen

3.5.1 Polymorphismen

Die erblichen Informationen eines Organismus werden in der Desoxyribonukleinsäure (DNA) gespeichert. Sie wiederum besteht aus einzelnen Abschnitten, den Genen, die als Erbanlagen auf den Chromosomen die Befehle

für die Proteinbiosynthese enthalten. Nun kann es auf Grund von Mutationen zu unterschiedlichen Ausprägungsformen dieser Gene kommen, man bezeichnet sie als Allele. Am betreffenden Genlocus können wir wegen des doppelten Chromosomensatzes, jenes des Vaters und der Mutter, zwei identische oder zwei unterschiedliche Allele besitzen. Allele, die durch natürliche Evolution entstanden sind, bezeichnet man als Wildtyp-Allele, ihnen gegenüber gestellt werden die Mutanten. Tritt in einer Population nun eine Variante eines bestimmten Gens mit einer Häufigkeit von mindestens 1% auf, spricht man von einem genetischen Polymorphismus bzw. einer Sequenzvariation. (72)

3 Arten von Polymorphismen lassen sich unterscheiden:

- Einzel Nukleotid Polymorphismen (Single Nucleotide Polymorphisms, SNP): Austausch eines Nukleotids der DNA
- Insertions- und Deletionspolymorphismen: Einbau- oder Verlust von zumindest einem Nukleotid
- Strukturvarianten (Kopienzahlvarianten): Vervielfältigungen bzw. Verluste (73)

3.5.1.1 Single Nukleotid Polymorphismen

Single Nukleotid Polymorphismen (SNPs) kommen Zustände, wenn sich ein Nukleotid der Genom Sequenz (Adenin, Thymin, Cytosin oder Guanin) verändert. Variationen einzelner Basenpaare sind die Folge. Diese treten in nichtkodierenden und kodierenden Abschnitten, den Genen, auf. SNPs stellen die häufigsten und auch bedeutendsten Polymorphismen dar, rund 90% der genetischen Variabilität liegt ihnen zu Grunde. Bezüglich unseres Erbgutes unterscheiden wir uns zwar in weniger als 1%, dennoch liefern sie die Basis unserer immensen Vielgestaltigkeit. Inwiefern Single Nukleotid Polymorphismen nun ursächlich für die Entstehung von Erkrankungen oder in der Folge für das Ansprechen von Therapien sind, ist heutzutage der Brennpunkt der Wissenschaft.

Für viele chronische Erkrankungen wie die Hypertonie und Diabetes konnte

bereits ein klarer Zusammenhang beobachtet werden, auch das Auftreten von Karzinomen ist bei bestimmten Keimbahnpolymorphismen wahrscheinlicher (74).

3.5.1.2 VDR-Polymorphismen und die Entstehung von Tumorerkrankungen

In den letzten Jahren konnte die weitverbreitete Forschung im Hinblick auf Keimbahnpolymorphismen beim Vitamin-D-Rezeptor beachtliche Ergebnisse verzeichnen. Sowohl der Zusammenhang zwischen jenen Genveränderungen und der Tumorentstehung als auch die Prognoseabschätzungen einzelner Karzinomerkrankungen wurden bestätigt. Signifikante Ergebnisse lieferten hier vor allem das Mamma-, Prostata-, Nierenzell-, Ovarial-, Harnblasen-, und kolorektale Karzinom. Am Aussagekräftigsten waren die Risikosteigerungen beim Mamma- und Prostatakarzinom wie auch beim malignen Melanom. Hinsichtlich ihrer Prognosen waren bis dato die Ergebnisse beim Prostata-, Brust- und Nierenzellkarzinom am Vielversprechendsten (6).

Bislang konnten mehr als 60 Polymorphismen des Vitamin-D-Rezeptor-Gens um die Promotorregionen, die Exons 2 bis 9 wie 1f bis 1c und in der 3'UTR-Region entschlüsselt werden. Die sich in der 3'UTR-Region befindenden sog. SNPs *VDR-rs1544410*, *VDR-rs7975232* und *VDR-rs731236* sind die diesbezüglich bekanntesten Polymorphismen (8,9,10).

Bei *VDR-rs2228570* handelt es sich um einen T/C-SNP, welcher sich im ersten der beiden potentiellen Startkodone befindet. Er ist im Exon 2 in der Nähe der 5'UTR-Region lokalisiert und führt zur Generierung eines zusätzlichen Startkodons, was in der Entstehung eines unterschiedlich großen Proteins resultiert. Aktuelle Daten deuten auf eine höhere Aktivität des C-Allels im Vergleich zum T-Allel bei der Transaktivierung des $1,25(\text{OH})_2\text{-D}_3$ -Signals hin. *Arai et al* zufolge hat der C/C-Genotyp eine 1,7-mal höhere Funktion bei der Vitamin-D-abhängigen transkriptionalen Aktivierung eines Reporter-Konstrukts unter der Kontrolle eines Vitamin-D-Response-Elementes in transfizierten HeLa-Zellen (8).

VDR-rs2238136 ist an der Bindungsstelle für einen darmspezifischen Transkriptionsfaktor in der Promotorregion des VDR-Gens lokalisiert und kann die

Genregulation beeinflussen. Er ist wichtig für die Entwicklung des Darmes und reguliert beim Erwachsenen die VDR-Expression im Dünndarm. Das A-Allel hat eine höhere VDR-Expression im Darm zufolge als das G-Allel und führt somit zu einer erhöhten Knochendichte durch eine bessere Kalziumabsorption im Darm (9).

In der 3'UTR-Region befinden sich *VDR-rs731236*, *VDR-rs1544410* und *VDR-rs757343*. Sie stehen miteinander in einem Kopplungsungleichgewicht. Es gibt Hinweise, dass die genannten SNPs als Marker für funktionelle Elemente in der 3'UTR-Region fungieren. Die 3'UTR-Region ist weiters in die Regulation der mRNA-Stabilität und Degradierung involviert, ihre SNPs sollen auch den Spiegel der VDR-mRNA erhöhen. *VDR-rs731236* befindet sich im Exon 9 des VDR-Gens. Es führt zu einer Kodonänderung (von ATT zu ATC). Es konnte gezeigt werden, dass der T/T-Genotyp mit niedrigeren zirkulierenden Spiegeln des aktiven Vitamin D₃ assoziiert ist. Der C/C-Genotyp korreliert mit einer erhöhten Transkriptionsaktivität, mRNA-Stabilität, und hohen Spiegeln von 1,25-D₃.

VDR-rs1544410 ist am 3'-Ende des VDR und steht in hohem Kopplungsungleichgewicht mit einigen anderen SNPs, wie dem *VDR-rs731236*. Das T-Allel ist mit einer erhöhten mRNA-Expression und erhöhten 1,25-(OH)₂-D₃-Spiegeln im Vergleich zum C-Allel vergesellschaftet. (10)

4 Material und Methoden

4.1 PatientInnen

Von Mai 2003 bis Juni 2009 konnten an der Abteilung für Onkologie der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz, 200 PatientInnen mit histologisch gesichertem Kolonkarzinom im klinischen Stadium II und III rekrutiert werden. Präexistente Erkrankungen, klinische Daten (Alter bei Diagnose und Geschlecht) und Tumordaten (Tumorgröße, Anzahl der befallenen Lymphknoten, Tumorgrad und UICC-Stadium) wurden von allen PatientInnen retrospektiv erhoben.

Alle PatientInnen unterzeichneten eine schriftliche Einverständniserklärung zur Verwendung der Blutproben für wissenschaftliche Zwecke. Nachsorgeuntersuchungen inklusive klinischer und radiologischer Untersuchungen (Computertomographie, Ultraschall des Abdomens, Thorax-Röntgen und Koloskopie) wurden dokumentiert.

Die für die Studie erhobenen Daten wurden in einer Excel-Datei gespeichert. All dies erfolgte unter striktem Datenschutz entsprechend dem Österreichischen Gentechnologiegesetz und den Richtlinien der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz.

4.2 Ausgewählte Polymorphismen

Potenziell funktionelle Polymorphismen innerhalb des Vitamin-D-Rezeptor-Gens, welche bereits zuvor mit kolorektalen Karzinomen in Verbindung gebracht werden konnten, wurden unter Verwendung öffentlicher Literaturquellen und Datenbanken wie NCBI-PubMed, dbSNP, Ensembl und GeneCards ausgewählt.

Die Selektionskriterien waren:

- Minor-Allel Frequenz $\geq 10\%$ bei KaukasierInnen
- Polymorphismen, welche die Funktion des Gens auf eine biologisch relevante Weise beeinflussen können (bereits publizierte Daten oder vorhersehbare Funktion unter Verwendung der Functional-Single-Nucleotide-Polymorphism (F-SNP)-Datenbank)
- Publizierte klinische Assoziationen wie Karzinomrisiko und Prognose

3. Tabelle: Ausgewählte VDR-Gen-Polymorphismen

NCBI	Lokalisation	Basen-austausch	Restriktions-schnittstelle	Genotyp
VDR-rs731236	Exon 9	T/C	T/T T/C C/C	wt ht mut
VDR-rs757343	Intron 8	G/A	G/G G/A A/A	wt ht mut
VDR-rs1544410	Intron 8	G/A	A/A G/A G/G	mut ht wt
VDR-rs2228570	Exon 2	C/T	C/C C/T T/T	wt ht mut
VDR-rs2238136	Intron 1e	G/A	A/A G/A G/G	mut ht wt

wt=homozygoter Wild-Typ; ht=heterozygot mutiert; mut=homozygot mutiert

4.3 Genotypisierung

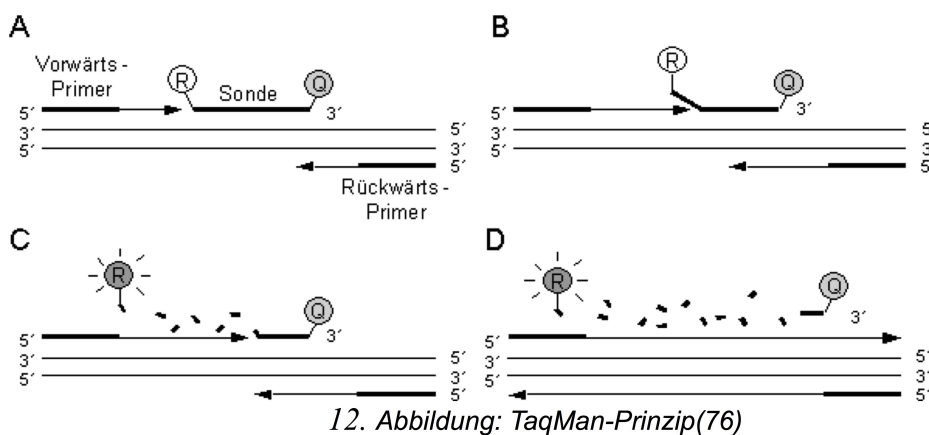
Die DNA wurde aus peripherem Blut unter Verwendung des GenElute™ Blood Genomic DNA Kit von SIGMA isoliert. Die Isolierung wurde gemäß der Anleitung des Herstellers durchgeführt. Alle Blutproben wurden bei -20 Grad Celsius aufbewahrt. Die Analyse der SNPs wurde mittels der 5'-Exonuclease- (TaqMan™) Technologie durchgeführt. Die dafür verwendeten Primer wurden unter Verwendung von „Assayby-Design“ des Kundenservice „Applied Biosystems“ (Applied Biosystems, Austria) hergestellt. (s.u. 4.Tab.) Die PCR (Polymerase-Ketten-Reaktion) wurde in einem Primus-96-plus-Thermalcycler (MWG BiotechAG, Deutschland) durchgeführt. Die Fluoreszenz wurde in einem Lambda-Fluoro-320-Plus-Plattenleser (MWG BiotechAG, Deutschland) unter Verwendung entsprechender Exzitations- und Emissionsfilter gemessen. Die Qualitätssicherung beinhaltete negative (keine Vorlage) und positive (Vorlage mit bekanntem Genotyp) Kontrollproben, Interpretation von Taqman-Streudiagrammen durch zwei unabhängige UntersucherInnen und wiederholte Analysen bei 10% der Proben. Für jeden Reaktionssatz (96 Proben) wurde eine Probe mit Wasser als Negativkontrolle hinzugefügt. Die klinischen Daten waren für die Genotypisierung durchführende Laborpersonal verblindet.

4. Tabelle: Ausgewählte VDR-Gen-Polymorphismen mit Vorwärts- und Rückwärtsprimern

SNP	Vorwärts-Primer/Rückwärts-Primer
VDR-rs731236	5'-CAA CCA AGA CTA CAA GTA CCG CGT CAG TGA-3'/ 5'-CAC TTC GAG CAC AAG GGG CGT TAG C-3'
VDR-rs757343	5'-TGA GGT TTC TTG CGG GCA GGG TA-3'/ 5'CAG GGC CGC CCC TCT TTG GA-3'
VDR-rs1544410	5'-CAA CCA AGA CTA CAA GTA CCG CGT CAG TGA-3'/ 5'CAC TTC GAG CAC AAG GGG CGT TAG C-3'
VDR-rs2228570	5'-ACT CTG GCT CTG ACC GTG-3'/ 5'-ATG GAAACA CCT TGC TTC TTC TCC CTC-3'
VDR-rs2238136	5'CAG CAT GCC TGT CCT CAG C-3'/ 5'-CCA GTA CTG CCA GCT CCC A-3'

4.3.1 TaqMan

Beim TaqMan-Verfahren handelt es sich um eine Echtzeit-PCR, welche auf dem Prinzip der 5'->3'-Exonukleaseaktivität der Taq-DNA-Polymerase beruht. Eine Sonde, deren Schmelztemperatur um 10 Grad höher als jene der Primer ist, wird zwischen diese positioniert, um nicht zu früh gelöst zu werden. Zwei Fluoreszenzfarbstoffe markieren die TaqMan-Sonde und bewirken beim Lösen der Taq-DNA-Polymerase von der Sonde messbare Fluoreszenzsignale. (75)



4.4 Statistische Analyse

Der Endpunkt der Studie war TTR (time to recurrence), welche vom Zeitpunkt der Diagnose des Kolonkarzinoms, bis zum Zeitpunkt der ersten Beobachtung eines Tumorrezidivs definiert wurde. Follow-up Informationen waren für alle PatientInnen vorliegend. Die Assoziation der Genotypen mit TTR wurde anhand von Kaplan-Meier-Kurven mit log-rank-Tests und univariater Cox-Regressions-Analyse analysiert. In die multivariate Analyse wurden bekannte prognostische Faktoren inkludiert, wie das Alter zum Zeitpunkt der Diagnose, Tumorgröße, histologischer Grad, Anzahl der befallenen Lymphknoten, klinisches Stadium und die Verabreichung einer 5-FU-basierten Chemotherapie.

Die Unterschiede wurden als signifikant angesehen, wenn ein p-Wert < 0,05 erreicht wurde. Alle Analysen wurden unter Verwendung des statistischen Programms SPSS 14.0 (SPSS Inc., Sunnyvale, USA) durchgeführt.

5 Ergebnisse

Die Grundmerkmale, der in die Studie inkludierten 200 PatientInnen, sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

5. Tabelle: Grundmerkmale; Studienkollektiv

		Absolute Häufigkeit	Relative Häufigkeit in %
Geschlecht	Männer	120	60
	Frauen	80	40
Tumorgröße	T1	5	2,5
	T2	10	5
	T3	143	71,5
	T4	41	20,5
	Unbekannt	1	0,5
Lymphknoten Beteiligung	N0	64	32
	N1	90	45
	N2	45	22,5
	Unbekannt	1	0,5
Grading	G1	14	7
	G2	133	66,5
	G3	53	26,5
Tumorstadium	II	64	32
	III	136	68
5-FU-basierte adj. Chemotherapie	ja	151	75,5
	nein	49	25,5

Das mittlere Alter zum Zeitpunkt der Diagnose lag bei 58 Jahren (Bereich 25 bis 83 Jahre). Die mediane TTR lag bei 87 Monaten.

Die Genotypisierung war bei zumindest 90% der PatientInnen für jeden analysierten Polymorphismus erfolgreich (mit Ausnahme von VDR-*rs757343* (88%)).

In unserem Studienkollektiv konnte keine Assoziation zwischen den Genotypen der einzelnen Genpolymorphismen und der TTR in der univariaten und multivariaten Analyse gezeigt werden.

6. Tabelle: Univariate und multivariate Cox-Regressions-Analyse der Polymorphismen für TTR bei KolonkarzinompatientInnen im klinischen Stadium II und III

	N	TTR				
		Univariate Analyse			Multivariate Analyse	
		Mediane TTR, m (95% CI)	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P
VDR-rs731236	183					
Wild-Typ	84	73,1 (66,5-79,7)	1 (Referenz)		1 (Referenz)	
Minor-Allel	99	69,4 (62,5-76,2)	1,36 (0,70-2,65)	0,355	1,54 (0,78-3,06)	0,217
VDR-rs1544410	185					
Wild-Typ	80	72,5 (65,7-79,4)	1 (Referenz)		1 (Referenz)	
Minor-Allel	105	69,5 (62,8-76,2)	1,29 (0,668-2,50)	0,441	1,57 (0,78-3,13)	0,205
VDR-rs2228570	187					
Wild-Typ	67	69,0 (60,9-77,1)	1 (Referenz)		1 (Referenz)	
Minor-Allel	120	72,5 (66,7-78,4)	0,89 (0,46-1,72)	0,734	0,82 (0,41-1,63)	0,820
VDR-rs2238136	186					
Wild-Typ	93	69,6 (63,0-76,2)	1 (Referenz)		1 (Referenz)	
Minor-Allel	93	72,5 (65,8-79,3)	0,941 (0,48-1,78)	0,852	0,94 (0,48-1,85)	0,859
VDR-rs757343	176					
Wild-Typ	124	74,1 (68,5-79,9)	1 (Referenz)		1 (Referenz)	
Minor-Allel	52	71,5 (63,0-79,9)	1,05 (0,5-2,21)	0,907	01,21 (0,56-2,59)	0,631

TTR=time to tumor recurrence; N=Anzahl; m=Monate; HR=Hazard Ratio; P=Wahrscheinlichkeit;
CI=Confidence Interval (Konfidenzintervall); Minor-Allel=homozygot und heterozygot mutiert

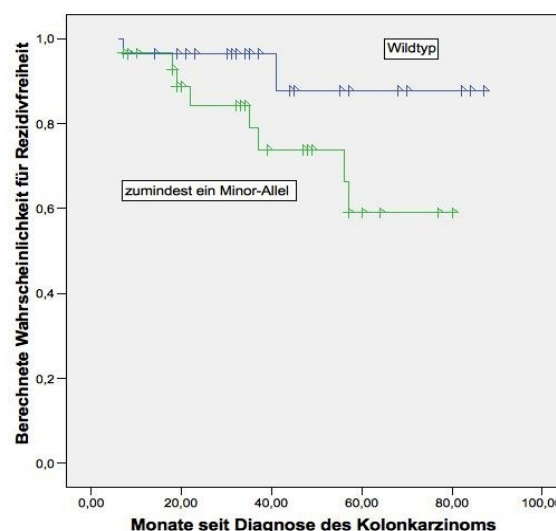
Allerdings ließ sich in der univariaten Cox-Regressions-Analyse von VDR-*rs731236* bei KolonkarzinompatientInnen im Stadium II eine statistisch nicht signifikante Tendenz hinsichtlich einer kürzeren TTR bei den PatientInnen mit zumindest einem C-Allel („Minor-Allel“) (61.9 vs 80.1 Monate; HR 1,36; 95% CI, 0,70 - 2,65; $p = 0,09$) beobachten. Dieses Ergebnis konnte in der multivariaten Cox-Regressions-Analyse jedoch nicht bestätigt werden.

7. Tabelle: Univariate und multivariate Cox-Regressions-Analyse von VDR-*rs731236* für TTR bei KolonkarzinompatientInnen im klinischen Stadium II

		TTR				
		Univariate Analyse			Multivariate Analyse	
	N	Mediane TTR, m (95% CI)	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P
VDR-<i>rs731236</i>	57					
T/T	28	80,1 (70,9-89,3)	1 (Referenz)		1 (Referenz)	
C/C T/C	29	61,9 (51,6-72,2)	1,36 (0,70-2,65)	0,090	2,65 (0,52-13,52)	0,240

TTR=time to tumor recurrence; N=Anzahl; m=Monate; HR=Hazard Ratio; P=Wahrscheinlichkeit;

CI=Confidence Interval (Konfidenzintervall)



13. Abbildung: TTR für VDR-*rs731236* bei Kolonkarzinompatienten im klinischen Stadium II

6 Diskussion

Das Ziel der Studie war es, einen möglichen Zusammenhang zwischen den fünf Vitamin-D-Rezeptor-Polymorphismen *rs2238136*, *rs2228570*, *rs1544410*, *rs757343*, *rs731236* und der TTR bei PatientInnen mit Kolonkarzinom im Stadium II und III zu evaluieren.

Wir konnten keine Assoziation zwischen den genannten VDR-Polymorphismen und der TTR, weder in der univariaten noch in der multivariaten Cox-Regressions-Analyse, bei KolonkarzinompatientInnen im Stadium II und III finden. Allerdings fanden wir eine nicht statistisch signifikante Tendenz hinsichtlich einer kürzeren TTR für *VDR-rs731236* bei KolonkarzinompatientInnen mit „Minor-Allel“ im Stadium II.

Das Vitamin-D-System reguliert verschiedene voneinander unabhängige biologische Prozesse. Der aktivste Metabolit von Vitamin D, das 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃, bindet an den VDR und bildet einen Komplex mit anderen Faktoren wie dem Retinoid-X-Rezeptor. Dieser Komplex bindet an die Vitamin-D-Response-Elemente an der DNA und reguliert die Transkription einer Vielzahl von Genen, welche in Zellwachstum, Differenzierung und Metastasierung involviert sind. Der VDR konnte in verschiedenen Organen und menschlichen Geweben des menschlichen Körpers nachgewiesen werden; er wird unter anderem auch in normalem Kolongewebe und Kolonkarzinomzellen exprimiert, (6) die Expression von VDR ist in den Kolonkarzinomzellen herunterreguliert.

Polymorphismen des VDR-Gens konnten mit der Prädisposition und Prognose verschiedener Krebsarten in Verbindung gebracht werden.

Viele durchgeführte Studien konnten auch die wichtige Rolle der VDR-Polymorphismen in der Entstehung der kolorektalen Karzinome bestätigen. *Kadiyska et al* fanden 2006 ein erhöhtes Risiko für die Entstehung der Kolorektalkarzinome bei homozygot oder heterozygot mutierten TrägerInnen des VDR-Polymorphismus *rs1544410* (11). Im Rahmen einer weiteren Studie konnten

Slattery et al 2001 eine Assoziation zwischen der Entstehung des Kolonkarzinoms und den VDR-Polymorphismen *rs731236* und *rs1544410* im Sinne eines reduzierten Risikos beim homozygot mutierten Genotyp für *VDR-rs1544410* und homozygot mutiertem Typ für *VDR-rs731236* aufzeigen, während bei *VDR-rs2228570* keine Assoziation bestand (77).

Wong et al berichteten dagegen 2003 von einem 2,5% höheren Risiko für ein kolorektales Karzinom bei homozygot mutierten PatientInnen mit vermindertem Kalzium- oder Fettkonsum für *VDR-rs2228570* (78). *Ochs-Balcom et al* fanden 2008 eine positive Assoziation zwischen dem homozygot mutierten Genotyp für *VDR-rs2238136* und dem homozygot mutierten Typ für *VDR-rs2228570* für die Kolonkarzinomentstehung (79). Andere Studien, wie die von *Flügge et al*, zeigten eine fehlende Korrelation zwischen den Genvarianten *VDR-rs2228570*, *VDR-rs2238136*, *VDR-rs1544410*, *VDR-rs757343* und *VDR-rs731236* und der Entstehung von Kolorektalkarzinomen (80).

Einige Forschungsgruppen haben den Zusammenhang zwischen VDR-Polymorphismen und der Prognose von Karzinomen untersucht. *Ruggiero et al* berichteten bei homozygot mutierten PatientInnen für *VDR-rs1544410* über ein vierfach erhöhtes Risiko für die Entwicklung von Mammakarzinometastasen (81). *Zou et al* fanden ein signifikant längeres Überleben beim G/A- und A/A-Genotyp des *VDR-rs2238136*-Polymorphismus bei PatientInnen im Anfangsstadium des nicht-kleinzelligen Bronchuskarzinoms (82). *Heist et al* konnten 2008 einen Zusammenhang zwischen dem C/C-Genotypen des *VDR-rs2228570* und einer höheren Überlebenschance bei fortgeschrittenen nicht-kleinzelligen Bronchuskarzinomen finden. Für *VDR-rs2238136* und *VDR-rs1544410* konnte dabei keine Assoziation nachgewiesen werden (83). Über ein ähnliches Ergebnis, den C/C-Genotypen des *VDR-rs2228570* betreffend, konnten kürzlich *Tamez et al* beim Ovarialkarzinom berichten (84).

Bis heute gibt es nur wenige Daten über die prognostische Wertigkeit der VDR-Polymorphismen bei PatientInnen mit kolorektalen Karzinomen. Die Ergebnisse von *Speer et al* implizieren einen möglichen Zusammenhang zwischen der Prognose von kolorektalen Karzinomen und dem *VDR-rs1544410*

Polymorphismus über Beeinflussung der erbB-2 Onkogen Expression (85).

In unserer Studie konnten wir keine Assoziation zwischen den untersuchten VDR-Polymorphismen und dem Wiederauftreten des Tumors bei KolonkarzinompatientInnen im Stadium II und III nachweisen. Wir konnten jedoch eine tendenziell positive Korrelation für eine längere TTR beim *VDR-rs731236*-Wildtyp in der univariaten Analyse bei KolonkarzinompatientInnen im Stadium II finden. Eine ähnliche Assoziation in Bezug auf den *VDR-rs731236*-Wildtyp konnte bereits beim Mammakarzinom durch *Schöndorf et al* nachgewiesen werden (86). Dieser fand eine um 50% verminderte Inzidenz von Knochenmetastasen bei BrustkrebspatientInnen mit Wildtyp. Ein möglicher Grund für diese Assoziation könnte in der Beeinflussung der Gentranskription und der mRNA-Stabilität des VDR-Gens durch die 3'UTR-Region-Polymorphismen, zu denen auch *VDR-rs731236* zählt, liegen (8). Doch auch in Bezug auf den *VDR-rs731236*-SNP sind die vorliegenden Daten kontroversiell. *Lundin et al* berichteten 1999 von einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für die Entwicklung von Lymphknotenmetastasen bei Brustkrebs beim T/T-Genotyp des *VDR-rs731236*-Polymorphismus (87). *Ikuyama et al* fanden 2002 ebenso eine Korrelation zwischen dem Wildtyp des *VDR-rs731236* und der Entstehung von aggressiveren Nierenzellkarzinomen (88).

Die unterschiedlichen Resultate der vorliegenden, sich mit VDR-Polymorphismen in Zusammenhang mit Karzinomen beschäftigenden Studien, stehen nicht im Gegensatz zu unseren Ergebnissen, da die Ätiologie und Progression maligner Erkrankungen, auch der Kolonkarzinome, multifaktoriell bedingt ist.

Die Stärken unserer Studie liegen in der relativ großen TeilnehmerInnenzahl und gut klinisch validierten Phänotypen. Zu den Schwächen zählt das retrospektive Studiendesign. Außerdem variiert die Verteilung der Genvarianten zwischen den verschiedenen ethnischen Gruppen, sodass unsere Ergebnisse in erster Linie für KaukasierInnen anwendbar sind. Zusammenfassend konnten wir in dieser Studie keine Assoziation zwischen den VDR-Polymorphismen und der TTR bei den KolonkarzinompatientInnen mit klinischen Stadien II und III finden, bei *VDR-rs731236* sahen wir jedoch bei KolonkarzinompatientInnen im Stadium II eine

statistisch nicht signifikante Tendenz hinsichtlich einer kürzeren TTR bei den PatientInnen mit zumindest einem G-Allel.

VDR-Polymorphismen konnten, wie bereits erwähnt, mit verschiedenen Erkrankungen in Verbindung gebracht werden, jedoch ist ihre funktionelle Wirkung bis jetzt noch nicht vollständig geklärt. Unsere Ergebnisse könnten bei der Identifizierung von PatientInnen helfen, die von einer aggressiven therapeutischen Strategie profitieren würden, es ist jedoch die Durchführung weiterer Studien mit größeren PatientInnenzahlen in diese Richtung notwendig, um unsere Ergebnisse zu bestätigen und die funktionellen Auswirkungen dieser Polymorphismen auf die Pathogenese und Progression von Kolonkarzinomen aufzuklären.

7 Literaturverzeichnis

1. Statistik Austria. Krebsinzidenz und Krebsmortalität in Österreich. Wien; 2010. <http://www.statistik.at> (April 2011).
2. Vogelstein B et al. Genetic alterations during colorectal-tumor development. N Engl J Med, 1988;319(9):525-32.
3. Garland CF et al. The role of Vitamin D in cancer prevention. Am J Public Health, 2006;96(2):252-61.
4. Zhao X, Feldman D. Regulation of vitamin d receptor abundance and responsiveness during differentiation of HT-29 human colon cells. Endocrinology, 1993;132(4):1808-14.
5. Uitterlinden AG et al. Genetics and biology of vitamin d receptor polymorphisms. Gene, 2004;338(2):143-56.
6. Köstner K et al. The relevance of vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms for cancer: a review of the literature. Anticancer Res, 2010; 29(9):p3511-36.
7. Rass P et al. Vitamin D receptor polymorphism in rheumatoid arthritis and associated osteoporosis. Rheumatol Int, 2006;26(11):964-71.
8. Arai H et al. A vitamin D receptor gene polymorphism in the translation initiation codon: effect on protein activity and relation to bone mineral density in Japanese women. J Bone Miner Res, 1997;12(6):915-21.
9. Yamamoto H et al. The caudal-related homeodomain protein Cdx-2 regulates vitamin D receptor gene expression in the small intestine. J Bone Miner Res, 1999;14(2):240-7.
10. Morrison NA et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. Nature, 1994;367(6460):284-7.
11. Kadiyska T et al. Vitamin d and estrogen receptor gene polymorphisms and the risk of colorectal cancer in Bulgaria. Int J Colorectal Dis, 2007;22:395-400.
12. Fanghänel J et al. Waldeyer Anatomie des Menschen. 17., völlig überarb. Aufl. Berlin: Walter de Gruyter; 2003. p996-1002.

13. Fritsch H, Kühnel W. Taschenatlas der Anatomie 2 Innere Organe. 8., korr. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2003. p202-8.
14. Gratzl M. Histologie. 5., neu übersetzte, überarb. Aufl. Berlin, Heidelberg: Springer; 2002. p263-66.
15. Silbernagl S, Despopoulos A. Taschenatlas der Physiologie. 6., korr. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2003. p290-93.
16. Herold G. Innere Medizin. Köln: Herold; 2007. p441-446.
17. Schmoll H-J et al. Kompendium internistische Onkologie, Standards in Diagnostik und Therapie, Teil 2. 4., völlig überarb. Aufl. Heidelberg: Springer; 2006. p3787-3937.
18. Fuchs R et al. Diagnostik, Therapie gastrointestinaler Tumoren. 10. Aufl. Stolberg: Nora; 2010. p212-424.
19. Böcker W et al. Pathologie. 3., völlig überarb. Aufl. München: Urban & Fischer; 2004. p196-215,742-52.
20. Massalme S. Crashkurs Pathologie. München: Urban & Fischer; 2004. p154-156.
21. http://ediss.sub.uni-hamburg.de/volltexte/1999/161/html/1_%20Einleitung.htm (Mai 2011)
22. Giovannucci E, Willet WC. Dietary factors and risk of colon cancer. *Ann Med*, 1994;26(6):443-52.
23. Willet WC et al. Relation of meat, fat, and fiber intake to the risk of colon cancer in a prospective study among women. *N Engl J Med*, 1990;323(24):1664-72.
24. Liang PS et al. Cigarette smoking and colorectal cancer incidence and mortality: systemic review and meta-analysis. *Int J Cancer*, 2009;124(10):2406-15.
25. Wei PL et al. Nicotine enhances colon cancer cell migration by induction of fibronectin. *Ann Surg Oncol*, 2001;18(6):1782-90.
26. Phipps AL et al. Prediagnostic smoking history, alcohol consumption and colorectal cancer survival: The Seattle Colon Cancer Family Registry.

- Cancer, 2011;(Epub).
27. Testino G, Borro P. Alcohol and gastrointestinal oncology. *World J Gastrointest Oncol*, 2010;2(8):322-25.
 28. Nisa H et al. Cigarette smoking, genetic polymorphisms and colorectal cancer risk: the Fukuoka Colorectal Cancer Study. *BMC Cancer*, 2010;10:274.
 29. Boffetta P, Hashibe M. Alcohol and cancer. *Lancet Oncol*, 2006;7(2):149-56.
 30. Hardman AE. Physical activity and Cancer Risk. *Proc Nutr Soc*, 2001;60(1):107-13.
 31. Hou L et al. Commuting physical activity and risk of colon cancer in Shanghai, China. *Am J Epidemiol*, 2004;160(9):860-7.
 32. Delellis Henderson et al. Menopausal hormone therapy use and risk of invasive colon cancer: the California Teacher's Study. *Am J Epidemiol*, 2010;171(4):415-25.
 33. Antonakopoulos N, Karamanolis DG. The role of NSAIDs in colon cancer prevention. *Hepatogastroenterology*, 2007;54(78):1694-700.
 34. Österreichische Krebshilfe.
<http://www.krebshilfe.net/kampagnen/wegweiser.shtml> (April 2011).
 35. Lohsirivat V et al. What are the risk factors of colonoscopic perforation. *BMC Gastroenterol*, 2009;24;9:71.
 36. Onkodin Onkologie Erkrankungen, kolorektales Karzinom.
http://www.onkodin.de/e2/e22972/index_ger.html (Jänner 2011).
 37. Tscheliessnigg KH et al. *Lehrbuch der Allgemeinen und Speziellen Chirurgie*. 3. Aufl. Wien: Wilhelm Maudrich; 2005. p100-4.
 38. Poston GJ et al. OncoSurge: a strategy for improving resectability with curative intent in metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*, 2005;23(28):7125-34.
 39. Van Cutsem E et al. Advanced Colorectal Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for treatment. *Ann Oncol*, 2010;21(5):v93-7.
 40. American Cancer Society, Colorectal Cancer.

- <http://www.cancer.org/cancer/colonandrectumcancer/DetailedGuide/index>
(Jänner 2011).
41. Preiß J et al. Onkologie 2010/11- interdisziplinäre Empfehlungen zur Therapie.
http://www.onkologie2011.de/solidetumoren/verdauungstrakt/colon_index.htm (Jänner 2011).
42. Deutsche Krebsgesellschaft, Darmkrebs. <http://www.krebsgesellschaft.de>
(Jänner 2011).
43. Labianca R et al. Primary Colon Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, adjuvant treatment and follow-up. Ann Oncol, 2010;21(5):v70-7.
44. Hacker U et al. Multimodality therapy of colorectal cancer. Internist(Berl), 2010;51(11):1366-73.
45. Aktories K et al. Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 9. Aufl. München: Urban & Fischer; 2005. p928-56.
46. <http://www.darmkrebs.de/behandlung/chemotherapie/behandlungsplaene/adjuvante-therapie/> (Jänner 2011).
47. Steger B, Ruß A. Austria Arzneimittel Pocket. Grünwald: Börm Bruckmeier; 2009. p259-74.
48. Lüllmann H et al. Pharmakologie und Toxikologie. 15., kompl. überarb. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2003. p472-84.
49. Desch EC et al. Colorectal Cancer Surveillance: 2005 Update of an American Society of Clinical Oncology Practice Guideline. J Clin Oncol, 2005;23(33):8512-19.
50. Klinke R, Silbernagl S. Lehrbuch der Physiologie. 4., korr. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2003. p331,357-62.
51. Horn F et al. Biochemie des Menschen. 3., überarb. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2005. p392-94.
52. Löffler G. Basiswissen der Biochemie mit Pathobiochemie. 5., kompl. überarb. Aufl. Berlin, Heidelberg: Springer; 2003. p624-6.

53. Bikle DD. Vitamin D regulated keratinocyte differentiation. *J Cell Biochem*, 2004;92(3):436-44.
54. Lips P. Vitamin D physiology. *Prog Biophys Mol Biol*, 2005.92(1):4-8.
55. Roberts CW et al. Fatty acid and sterol metabolism: potential antimicrobial targets in apicomplexan and trypanosomatid parasitic protozoa. *Mol Biochem Parasitol*, 2003;126(2):129-42.
56. Holick MF et al. Vitamin D status: measurement, interpretation and the clinical application. *Ann Epidemiol*, 2009;19(2):73-8.
57. Dusso AS et al. Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2005;289:F8-F28.
58. Aranow C. Vitamin D and the Immune System. *J Investing Med*, 2011; (Epub).
59. Wu S, Sun J. Vitamin D, Vitamin D Receptor and macroautophagy in inflammation and infection. *Discov Med*, 2011;11(59):325-35.
60. Wen H, Baker JF. Vitamin D, immunoregulation and rheumatoid arthritis. *J Clin Rheumatol*, 2011;17(2):102-7.
61. Bikle DD. Vitamin D and the skin. *J Bone Miner Metab*, 2010;121(1-2):117-30.
62. Cosenso-Martin LL, Vilela-Martin FF. Is There Any Association Between Vitamin D And Hypertension? *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov*, 2011; (Epub).
63. Motiwala SR, Wang TJ. Vitamin D and cardiovascular disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2011;(Epub).
64. Heidari B et al. Association between nonspecific skeletal pain and vitamin D deficiency. *Int J Rheum Dis*, 2010;13(4):340-6.
65. Shin JS et al. Vitamin D effects on pregnancy and the placenta. *Placenta*, 2010;31(12):1027-34.
66. Lapillonne A. Vitamin D deficiency during pregnancy may impair maternal and fetal outcomes. *Med Hypotheses*, 2010;74(1):71-5.
67. Speer G. The role of vitamin D in the prevention and additional therapy of cancers. *Magy Onkol*, 2010;54(4):303-14.

68. Touvier M et al. Meta-analyses of vitamin d intake, 25-hydroxyvitamin d status, vitamin d receptor polymorphisms and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2011;20(5):1003-16.
69. Parker G, Brotchie H. 'D' for depression: any role for Vitamin D?: 'Food for Thought'II. *Acta Psychiatr Scand*, 2011;(Epub).
70. Mosekilde L. Vitamin D and the Elderly. *Clin Endocrinol*, 2005;62(3):265-81.
71. Buselmaier W, Tariverdian G. *Humangenetik*. 2., völlig neu bearb. Aufl. München: Urban & Fischer; 2004. p187.
72. Miyamoto K et al. Structural organization of the human vitamin D receptor chromosomal gene and its promoter. *Mol Endocrinol*, 1997;11(8):1165-79.
73. Groth J. *Meine Moleküle. Deine Moleküle - Von der molekularen Individualität*. (Online Buch). Berlin;2010.
74. Humane Genome Project, SNP Fact Sheet.
http://www.ornl.gov/sa/techresources/Human_genome/home.shtml (Mai 2011).
75. Premier Biosoft International.
http://www.premierbiosoft.com/tech_notes/TaqMan.html (Mai 2011).
76. <http://edoc.hu-berlin.de/dissertationen/gorzelnia-kerstin-2002-03-18/HTML/image003.gif> (Mai 2011).
77. Slattery ML et al. Variants of the VDR gene and risk of colon cancer (United States). *Cancer Causes Control*, 2001;12:359-64.
78. Wong HL et al. Vitamin D receptor start codon polymorphism and colorectal cancer risk: effect modification by dietary calcium and fat in Singapore Chinese. *Carcinogenesis*, 2003;24(6):1091-5.
79. Ochs-Balcom HM et al. Associations of Vitamin D receptor gene variants, adiposity and colon cancer. *Carcinogenesis*, 2008;29(9):1788-93.
80. Flügge et al. Vitamin D receptor haplotypes protect against development of colorectal cancer. *Eur J Clin Pharmacol*, 2007;63:997-1005
81. Ruggiero et al. Vitamin D receptor gene polymorphism is associated with metastatic breast cancer. *Oncol Res*, 1998;10(1):43-6.
82. Zhou et al. Polymorphisms of Vitamin D Receptor and survival in early

- stage non-small-cell lung cancer patients. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2006;15(11):2239-45.
83. Heist RS et al. Circulating Hydroxy-Vitamin D, VDR Polymorphisms, and Survival in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*, 2008;26:5596-602.
84. Tamez S et al. Vitamin D receptor polymorphisms and prognosis of patients with epithelial ovarian cancer. *Brit J Can*, 2009;101:1957-60.
85. Speer G et al. Vitamin D Receptor Gene *BsmI* Polymorphism Correlates with erbB-2/HER-2 Expression in Human Rectal Cancer. *Oncology*, 2000;58:242-7.
86. Schöndorf et al. Association of the vitamin d receptor genotype with bone metastasis in breast cancer patients. *Oncology*, 2003;64:145-9.
87. Lundin AC et al. Association of Breast Cancer Progression with a Vitamin D Receptor Gene Polymorphism. *Cancer Res*, 1999;59:2332-4.
88. Ikuyama T et al. Association of Vitamin D Receptor Gene Polymorphism with renal cell carcinoma in Japanese. *Endocr J*, 2002;49(4):433-8.