

JOURNAL FÜR MENOPAUSE

FRANKE HR, VERMES I

Hormonelle und nichthormonelle Induktion der Apoptose bei menschlichen Mammakarzinomzellen in vitro

Journal für Menopause 2002; 9 (Sonderheft 2) (Ausgabe für Schweiz), 6-7

Journal für Menopause 2002; 9 (Sonderheft 2) (Ausgabe für Deutschland), 6-7

Homepage:

www.kup.at/menopause

**Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche**

ZEITSCHRIFT FÜR DIAGNOSTISCHE, THERAPEUTISCHE UND PROPHYLAKTISCHE ASPEKTE IM KLIMAKTERIUM

Erschaffen Sie sich Ihre ertragreiche grüne Oase in Ihrem Zuhause oder in Ihrer Praxis

Mehr als nur eine Dekoration:

- Sie wollen das Besondere?
- Sie möchten Ihre eigenen Salate, Kräuter und auch Ihr Gemüse ernten?
- Frisch, reif, ungespritzt und voller Geschmack?
- Ohne Vorkenntnisse und ganz ohne grünen Daumen?

Dann sind Sie hier richtig



HORMONELLE UND NICHTHORMONELLE INDUKTION DER APOPTOSE BEI MENSCHLICHEN MAMMAKARZINOM- ZELLEN IN VITRO

EINFÜHRUNG

Tumorzellen unterscheiden sich von normalen Körperzellen hauptsächlich dadurch, dass sie sich der normalen Wachstumsregulation entziehen haben. Unter den verschiedenen Phasen des Zellzyklus unterscheidet sich bei Tumoren vor allem die Länge der G₁-Phase (Wachstumsphase). Die Dauer der S-Phase (DNA-Synthesephase), G₂- (2. Wachstumsphase) und M-Phase (Mitosephase) ist vergleichsweise konstant. Ein normaler Zellzyklus dauert 12 bis 24 Stunden, dagegen kann die Zelle in der G₀-Phase tage-, monate- oder sogar jahrelang verweilen. In *In-vitro*-Studien hat man feststellen können, dass Estrogene Zellen aus dieser Ruhephase in die frühe G₁-Phase stimulieren. Dabei wird die Expression von Cyclin D1 erhöht, welches wiederum andere cyclinabhängige Kinasen aktiviert (Abbildung 1). Bei dem als Restriktionspunkt bezeichneten Kontrollpunkt (Checkpoint) entscheidet sich, ob die Zelle weiter in die S-Phase übergeht oder nicht. Die kontinuierliche Inkubation von verschiedenen hormonähnlichen Substanzen kann die Expression von Cyclin D1 blockieren und damit die Zelle in ihrer Zellzyklusprogression blockieren und Apoptose induzieren.

Auch *In-vivo*-Studien haben gezeigt, dass Estrogene in einer isolierten

Gabe eine Zellhyperplasie, also eine Zellproliferation, induzieren, Gestagene dagegen apoptotisch wirken, d. h. den programmierten Zelltod günstig beeinflussen. Tamoxifen, welches zur Behandlung von hormonabhängigen Mammakarzinomen eingesetzt wird, hemmt das Zellwachstum und induziert die Apoptose [1, 2]. Das Gleichgewicht zwischen Apoptose und Zellproliferation bestimmt also letztendlich die Rate des Tumorwachstums, und jede Veränderung eines dieser beiden Faktoren kann ein Schlüsselement für die unkontrollierte Ausbreitung von malignen Tumoren sein.

MATERIAL UND METHODEN

Menschliche Mammakarzinomzellen (ER-positive MCF-7-Zellen und die ER-negative humane Brustkrebszelllinie MDA MB 231) wurden *in vitro* mit Estradiol (E2), Dihydrodydrogesteron (DHD), dem Hauptmetaboliten des Gestagens Dydrogesteron, Tamoxifen (Tam) und Cyclophosphamid (Cyclo) für 4, 24, 48 und 144 Stunden in Konzentrationen von 10⁻⁶ M inkubiert.

Apoptose wurde in doppelter Ausführung mit Hilfe des DNA-Fragmentationsassays ermittelt [3]. Die Aktivierung von Endonukleasen führt zu einem Aufbrechen der DNA. Diese doppelsträngigen DNA-Stränge werden mit Hilfe von Propidiumiodid markiert und durch Fluoreszenzmessung quantitativ bestimmt. Eine Verminderung der Fluoreszenz entsteht durch das Austreten von DNA-Fragmenten aus nicht mehr intakten Zellkernen. Die Proliferation wurde ebenfalls in doppelter Ausführung

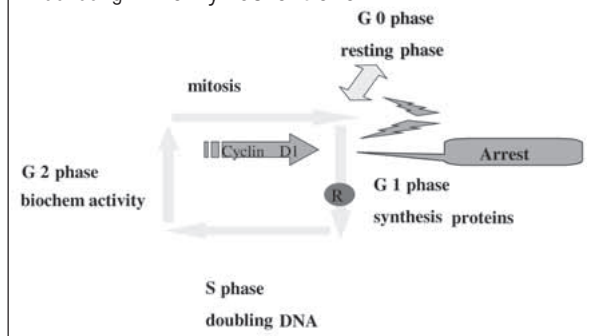
durch Messung der Expression von Cyclin D1 mittels quantitativer RT-PCR-Technik bestimmt. Cyclin D1 gilt als Marker für die Zellproliferation. Cyclin D1 kontrolliert die Progression des Zellzyklus durch Aktivierung cyclinabhängiger Kinasen. Bei mehr als 50 % der menschlichen Brustkrebszellen findet sich eine Überexpression von Cyclin D1 [4].

RESULTATE

Die Proliferationsrate war bei ER-positiven Mammakarzinomzellen im Vergleich zu Kontrollen 48 Stunden nach Inkubation mit der Kombination E2+DHD+Tam am höchsten und 144 Stunden nach Inkubation mit Tam am niedrigsten. Bei ER-negativen Mammakarzinomzellen fand sich die höchste Rate nach 144 Stunden Inkubation mit E2+DHD+Tam und die niedrigste Rate nach 24 Stunden Inkubation mit E2+DHD. Der Apoptosequotient (Apoptose/Proliferation) bei ER-positiven Mammakarzinomzellen war bei Inkubation mit Cyclo für 48 Stunden am höchsten und nach 24 Stunden Inkubation mit E2+DHD dagegen am niedrigsten. Auch bei ER-negativen Mammakarzinomzellen war der höchste Quotient nach 48stündiger Inkubation mit Cyclo und der niedrigste Quotient nach 48stündiger Inkubation mit Tam und E2+DHD+Tam und nach 144stündiger Inkubation mit der Kombination E2+DHD zu beobachten.

Abbildung 2 zeigt das Verhältnis zwischen Apoptose und Zellproliferation im Vergleich zur Kontrolle. Die gepunktete Linie zeigt ein Verhältnis von 1. Ein Verhältnis > 1 ist mit einer Tumorregression gleichzusetzen. Die grösste Tumorregression wurde sowohl bei ER-positiven als auch bei ER-negativen Mammakarzinomzellen nach 144 Stunden Inkubation mit Tam beobachtet. Cyclo, E2+DHD und die Kombina-

Abbildung 1: Zellzykluskontrolle



tion aus E2+DHD+Tam zeigten bei ER-positiven Mammakarzinomzellen nach 144 Stunden eine ähnlich stark ausgeprägte Tumorregression.

In Abbildung 3 ist der Quotient aus Apoptose und Proliferation für E2+DHD und Tam bei ER-positiven MCF-7-Zellen nach 21 Tagen dargestellt. E2+DHD induzieren weiterhin die Apoptose, und Tam ist dabei der stärkste Induktor der Apoptose.

SCHLUSSFOLGERUNG

Das Gleichgewicht zwischen Zellproliferation und Apoptose ist entscheidend dafür, ob ein Tumor wächst oder sich zurückentwickelt. Tam führt, wie erwartet, am stärksten zu einer Tumorregression in ER-positiven wie auch in ER-negativen Mammakarzinomen. Dasselbe gilt für die Kombination von E2+DHD wie auch für E2+DHD+Tam. Allerdings führt die Anwendung von Tam bei 40 % aller Patientinnen zu starken Hitzewallungen. Bei den Resultaten *in vitro* war eine Parallelität zu den Erkenntnissen epidemiologischer Studien am Menschen zu erkennen, nach denen bei früheren ER-positiven Brustkrebspatientinnen, die wegen klimakterischer Beschwerden mit einer Hormonsubstitution behandelt werden, ein ge-

ringeres Rezidivrisiko besteht [5]. Wir sind der Meinung, dass mit Tam behandelte Patientinnen mit einem ER-positiven Mammakarzinom gleichzeitig mit der Kombination E2+DHD beginnen können, um die Nebenwirkungen von Tam, ohne Beeinträchtigung von dessen Wirksamkeit, zu mildern.

Literatur

1. Chang KJ, Lee TT, Linares-Cruz G, Fournier S, de Lignieres B. Influences of percutaneous administration of estradiol and progesterone on human breast epithelial cell cycle *in vivo*. *Fertil Steril* 1995; 63: 785–91.

2. Mandlekar S, Kong AN. Mechanisms of tamoxifen-induced apoptosis. *Apoptosis* 2001; 6: 469–77.

3. Vermes I, Haanen C, Reutelingsperger C. Flow cytometry of apoptotic cell death. *J Imm Methods* 2000; 243: 167–90.

4. Yu Q, Geng Y, Sicinski. Specific protection against breast cancers by cyclin D1 ablation. *Nature* 2001; 411: 1017–21.

5. O'Meara ES, Rossing MA, Daling JR, Elmore JG, Barlow WE, Weiss NS. Hormone replacement therapy after a diagnosis of breast cancer in relation to recurrence and mortality. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 754–62.



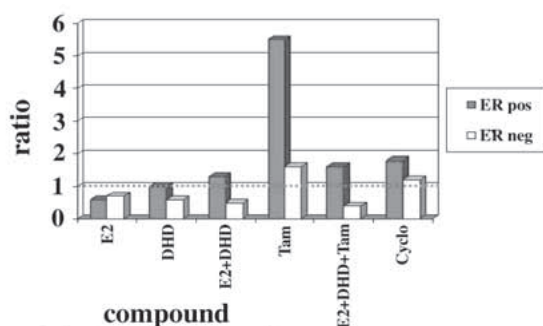
Henk R. Franke, MD, PhD

Geboren am 19. November 1952 in Amsterdam, studierte Medizin an der Freien Universität Amsterdam, wo er 1978 mit dem Staatsexamen abschloss. Ausbildung in Gynäkologie mit anschließender Promotion zum Doktor der Medizin an der Freien Universität Amsterdam zum Thema „Gestational Trophoblastic Disease in The Netherlands“. Seit 1982 Facharzt für Gynäkologie in Enschede. Zu seinen speziellen Interessen gehören Endoskopie, Infertilität und Hormonsubstitutionstherapie. Wissenschaftliche Tätigkeit auf den Gebieten der Hormonsubstitutionstherapie und des Mammakarzinoms.

Korrespondenzadresse:

Dr. med. Henk Franke
Department of Ob/Gyn
Medisch Spectrum Twente Hospital Group
Enschede, The Netherlands
E-Mail: hfranke@xs4all.nl

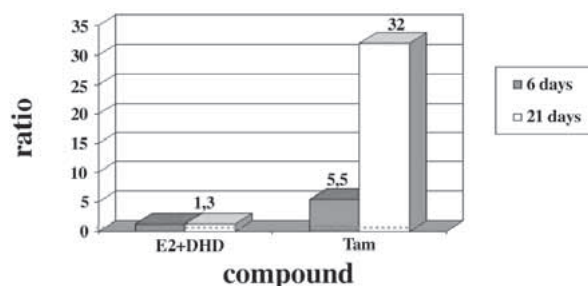
Abbildung 2: Apoptose/Proliferation versus Kontrollen nach 144 Stunden



Ratio > 1 suggests tumor regression

HF, 2002

Abbildung 3: Apoptose/Proliferation versus Kontrollen bei MCF-7-Zellen



Ratio > 1 suggests tumor regression

HF, 2002

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere Rubrik

☒ Medizintechnik-Produkte



Neues CRT-D Implantat
Intica 7 HF-T QP von Biotronik



Artis pheno
Siemens Healthcare Diagnostics GmbH



Philips Azurion:
Innovative Bildgebungslösung

Aspirator 3
Labotect GmbH



InControl 1050
Labotect GmbH

e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

Die Lieferung umfasst 4–5 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Unsere e-Journale stehen als PDF-Datei zur Verfügung und sind auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

☒ Bestellung e-Journal-Abo

Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

Impressum

Disclaimers & Copyright

Datenschutzerklärung