

Bestimmung der Borkonzentration in Leber- und Darmkrebszellen nach Transstimulation mit L-Tyrosin

D. Iffland¹, C. Grunewald^{1,2}, Ch. Schütz¹, J.V. Kratz¹, P. Langguth², T.L. Ross¹, G. Hampel¹

¹Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Institut für Kernchemie, Deutschland; ²Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Institut für Pharmazie und Biochemie, Deutschland

Um ein Behandlungsprotokoll für Lebermetastasen mittels der Bor-Neutronen-Einfang-Therapie (BNCT) entwickeln zu können, muss die biologische Wirkung dieser Strahlentherapie abgeschätzt werden. Hierzu sind im Vorfeld Zellversuche durchzuführen, um Informationen zur ¹⁰B-Anreicherung im Tumorgewebe, sowie über die biologische Wirkung zu erhalten. Um eine effiziente Anwendung der BNCT zur Tumorbekämpfung zu erzielen, müssen entartete Zellen mehr mit ¹⁰B angereichertes BPA (Borphenylalanin) aufnehmen als gesunde Zellen. Eine Möglichkeit die Anreicherung zu verbessern liefert die Anwendung des Preloadings, welches auch Transstimulation genannt wird. Hierbei werden die Zellen vor der Applikation des BPA mit einer Aminosäure angereichert, welche dann anschließend mittels LAT1-Aminosäuretransporter durch das BPA ersetzt wird. Voraussetzung hierfür ist, dass die Aminosäure eine gute Affinität zu einem Transportsystem, sowie eine gute Efflux-Selektivität durch das L-System besitzt. Als mögliche Aminosäuren kommen daher das körpereigene L-Tyrosin und L-DOPA in Frage. Das Phänomen des Preloadings mittels L-DOPA wurde bereits von mehreren Gruppen in *in vitro* Experimenten an der Zelllinie C6-Gliomazellen eruiert [1, 2]. Da L-DOPA, welches auch unter dem Namen Levodopa als Parkinsonmedikament eingesetzt wird, häufig Muskelkrämpfe als Nebenwirkung [3] mit sich bringt und diese bei einer möglichen Anwendung der BNCT vermieden werden sollte, wurde ausschließlich das Prinzip des Preloadings mit L-Tyrosin für die durchgeführten *in vitro* Experimente verwendet. Die Bestimmung der von den Zellen aufgenommenen ¹⁰B-Menge erfolgte mittels ICP-MS (inductively coupled plasma mass spectrometry).

Für die Zelleexperimente wurden je 1,5 Mio. Zellen in Petrischalen mit einem Durchmesser von 10 cm für zwei Tage anwachsen gelassen. Alle Versuche wurden im Puffer HBSS durchgeführt, wobei die BPA Konzentration immer 20 ppm betrug. Alle Versuche wurden dreimal wiederholt.

Es wurden Zelleexperimente mit der Zelllinie HuH-7, welche menschliche Hepatozyten sind, durchgeführt, um die BPA Anreicherung durch vorheriges Preloading mit L-Tyrosin zu erhöhen. Die BPA-Inkubationszeit lag bei allen Experimenten bei 2,5 Stunden. Es konnte gezeigt werden, dass die Anreicherung von BPA durch vorheriges Preloading mit 5 mMol/L L-Tyrosin in HBSS für zwei Stunden um einen Faktor von bis zu 2,48 gegenüber einer einfachen BPA-Inkubation von 2,5 Stunden gesteigert werden kann. In Abbildung 1 sind die gefundenen Anreicherungsfaktoren für die Zelllinie HuH-7 aufgezeigt.

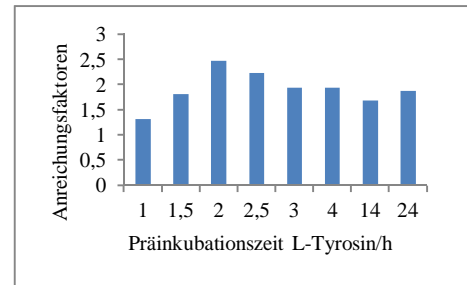


Abbildung 1: Anreicherungsfaktoren nach Preloading mit 5 mMol/L L-Tyrosin für die Zelllinie HuH-7

Da viele andere Krebsarten, wie beispielsweise das kolorektale Karzinom, durch Ausbildung von Metastasen Sekundärtumore in der Leber bilden, wurde ebenfalls untersucht, ob durch das Prinzip des Preloadings mit L-Tyrosin die BPA-Aufnahme in Darmkrebszellen (Caco-2) erhöht werden kann. Da diese Zelllinie nicht ausreichend lange in HBSS, worin die Inkubation von L-Tyrosin und BPA durchgeführt wurde, überleben und sich vom Boden der Petrischale ablösen, wurden die Präinkubationszeit von L-Tyrosin, sowie die Inkubationszeit von BPA (1h) herabgesetzt. Hierdurch konnte ein Anreicherungsfaktor von 1.47 ermittelt werden, welcher in Abbildung 2 aufgezeigt ist.

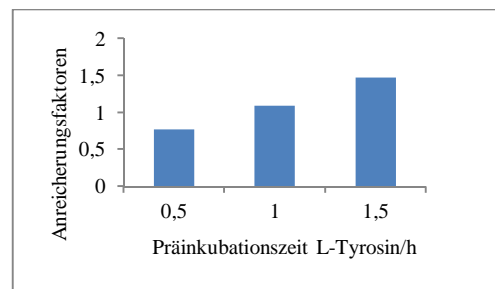


Abbildung 2: Anreicherungsfaktoren nach Preloading mit 5 mMol/L L-Tyrosin für die Zelllinie Caco-2 (1h BPA)

Referenzen

- [1] S. Capuani et al., Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys., 72, 562-567 (2008).
- [2] J.A. Coderre et al., Radiat. Res., 149, 163-170 (1998).
- [3] X. X. Liu et al., Life Sciences, 23, 2277-2288 (2000).