

# Dexamethason verstärkt Chinolon-induzierte Effekte auf Sehnenzellen vom Menschen *in vitro*

<sup>1</sup>Judith Sendzik, <sup>2</sup>Mehdi Shakibaei, <sup>3</sup>Monika Schäfer-Korting, <sup>1</sup>Ralf Stahlmann

<sup>1</sup> Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie, Charité-Universitätsmedizin Berlin;

<sup>2</sup> Institut für Anatomie, Ludwig-Maximilians-Universität, München; <sup>3</sup> Institut für Pharmazie, Freie Universität Berlin

judith.sendzik@charite.de

## Einleitung

Chinolone können zu Tendinitiden und Sehnenrupturen führen. Diese für eine antibakteriell wirksame Substanzklasse ungewöhnliche unerwünschte Wirkung tritt selten auf, ist aber für den betroffenen Patienten als schwerwiegend einzustufen.

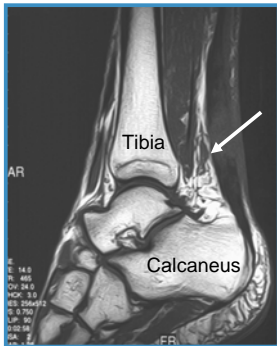


Abb. 1. MRT Aufnahme einer subtalen Ruptur der Achillessehne unbekannter Ursache (modifiziert nach Shakeri-Nejad et al., AMT 2005).

Aus retrospektiven Studien und Fallberichten konnten jedoch einige Faktoren abgeleitet werden, die das Risiko einer Chinolon-induzierten Schädigung der Sehne offenbar erhöhen: ein höheres Lebensalter > 60 Jahre, eine gleichzeitige oder vorangegangene Therapie mit Glukokortikoiden oder chronische Nierenerkrankungen.

In einem *in vitro*-Modell mit primären Sehnenzellen vom Menschen wurden die Effekte der beiden Chinolone Ciprofloxacin, Levofloxacin und des Glukokortikoids Dexamethason einzeln und in Kombination untersucht. Die Analyse erfolgte sowohl morphologisch mit Hilfe der Elektronenmikroskopie als auch biochemisch mittels Western Blot.

## Material & Methoden

**Zellkultur.** Die Isolierung der Sehnenzellen erfolgte durch ein nicht-enzymatisches Verfahren aus überschüssigem Sehnenmaterial einer unfallbedingten Operation am Finger eines männlichen Patienten mittleren Alters. Die Tenozyten wurden als Monolayer 1-4 Tage mit (a) 3 mg Ciprofloxacin oder Levofloxacin /L Medium (b) 0,1 nM Dexamethason (ca. 0,039 µg/L) und (c) Ciprofloxacin oder Levofloxacin (3 mg/L) plus 0,1 nM Dexamethason inkubiert. Für die Experimente wurde ein Kulturmedium aus DMEM und Ham's F12 (1:1) unter Zusatz von 5% FKS verwendet. Unbehandelte Zellen dienten als Kontrolle.

**Elektronenmikroskopie (EM).** Nach der Fixierung wurden die behandelten und unbehandelten Zellen entwässert, in Epon eingebettet und als Ultradünnschnitte mit Hilfe eines Zeiss Elektronenmikroskopes analysiert.

**Western Blot (WB).** Das Western Blot Verfahren zur biochemischen Analyse der Effekte auf die  $\beta$ 1-Integrine, aktiviertes Shc (src homology collagen) und aktivierte Caspase-3 (casp-3) wurde an anderer Stelle detailliert beschrieben (Shakibaei et al., Arch Tox 2001, 75:369-374).

## Ergebnisse

3 mg/L Ciprofloxacin führten etwa ab Tag 3 zu einer deutlichen Reduktion der  $\beta$ 1-Integrin-Menge (etwa auf das 0,4-fache). Mit 3 mg/L Levofloxacin ließ sich dagegen kein Effekt im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle nachweisen (Abb. 2 a). Auch Dexamethason verursachte keine erkennbaren Effekte (ohne Abbildung).

Bei der Kombination der Chinolone (3 mg/L) mit 0,1 nM Dexamethason trat die Verminderung der  $\beta$ 1-Integrin-Menge rascher auf: für Ciprofloxacin plus Dexamethason ab Tag 1, für Levofloxacin plus Dexamethason ab Tag 3 (Abb. 2 b).

3 mg/L Ciprofloxacin reduzierte die Menge an aktiviertem Shc bereits ab dem ersten Inkubationstag. Auch 3 mg/L Levofloxacin führten zu einer verminderten Menge dieses Signalproteins, jedoch erst ab Tag 3 (ohne Abbildung).

Die Effekte der beiden untersuchten Chinolone auf aktiviertes Shc, wurden durch die gleichzeitige Inkubation mit Dexamethason (0,1 nM) nicht verstärkt (ohne Abbildung).

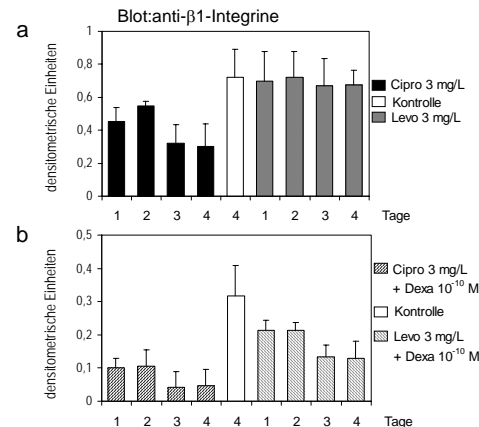


Abb. 2. WB: Effekt einer 1-4 tägigen Inkubation mit a) 3 mg/L Ciprofloxacin bzw. Levofloxacin und b) einer Kombinationsinkubation mit 3 mg/L Chinolon plus 0,1 nM Dexamethason auf die  $\beta$ 1-Integrine.

Erste Anzeichen eines apoptotischen Zelltods konnten auch in der Ultrastruktur der behandelten Tenozyten mit Hilfe der Elektronenmikroskopie gezeigt werden (Abb. 3).

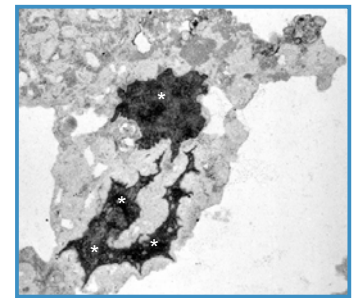


Abb. 3. EM (x 10000): Anzeichen einer Apoptose nach Inkubation mit 3 mg/L Ciprofloxacin: u.a. Kernauflösung mit Bildung von sog. apoptotic bodies (\*).

Biochemisch konnte analog der Apoptosemarker „aktivierte Caspase-3“ nachgewiesen werden (Abb. 4 a, b).

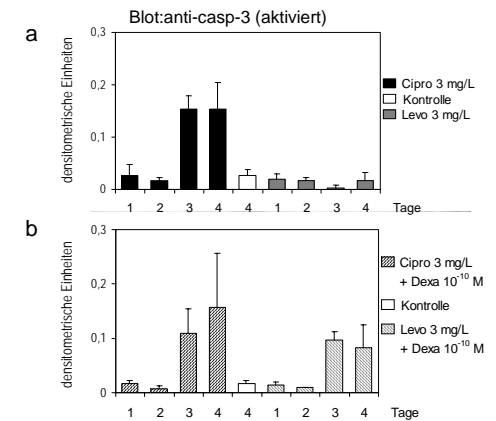


Abb. 4. WB: Effekt einer 1-4 tägigen Inkubation mit a) 3 mg/L Ciprofloxacin bzw. Levofloxacin und b) einer Kombinationsinkubation mit 3 mg/L Chinolon plus 0,1 nM Dexamethason auf die aktivierte casp-3.

## Diskussion

Dexamethason verstärkt die Effekte von Ciprofloxacin bzw. Levofloxacin auf die  $\beta$ 1-Integrine und die aktivierte casp-3 in Tenozyten vom Menschen *in vitro*.

Dies steht in Übereinstimmung mit den klinischen Beobachtungen einer Risikoerhöhung für Chinolon-induzierte Tendopathien durch Glukokortikoide.

Diese Arbeit wurde von der Sonnenfeld-Stiftung unterstützt.