

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

- costal muscle of normal volunteers and patients with myotonia congenita. *J Clin Invest* 1971;50:2091.
18. Adrian RH, Bryant SH. On the repetitive discharge in myotonic muscle fibres. *J Physiol* 1974;240:505-15.
 19. Becker PE. Myotonia congenita and syndromes associated with myotonia. I: Becker PE, Lenz W, Vogel F et al, eds. *Topics in human genetics*. Stuttgart: Thieme, 1977.
 20. Ptacek LJ, Trimmer JS, Agnew WS et al. Paramyotonia congenita and hyperkalemic periodic paralysis map to the same sodium-channel locus. *Am J Hum Genet* 1991;49:851-4.
 21. Koch MC, Steinmeyer K, Lorenz C et al. The skeletal muscle chloride channel in dominant and recessive myotonia. *Science* 1992;257:797-800.
 22. Brook JD, McCurrach ME, Harley HG et al. Molecular basis of myotonic dystrophy: expansion of a trinucleotide (CTG) repeat at the 3' end of a transcript encoding a protein kinase family member. *Cell* 1992;68:799-808.
 23. George AL, Crackower MA, Abdalla JA et al. Molecular basis of Thomsen's disease (autosomal dominant myotonia congenita). *Nat Genet* 1993;3:305-10.
 24. Charlet-B N, Savkur RS, Singh G et al. Loss of the muscle-specific chloride channel in type 1 myotonic dystrophy due to misregulated alternative splicing. *Mol Cell* 2002;10:45-53.
 25. Saviane C, Conti F, Pusch M. The muscle chloride channel CIC-1 has a double-barreled appearance that is differentially affected in dominant and recessive myotonia. *J Gen Physiol* 1999;113:457-67.
 26. Dutzler R, Campbell EB, Cadene M et al. X-ray structure of a CIC chloride channel at 3.0 Å reveals the molecular basis of anion selectivity. *Nature* 2002;415:287-94.
 27. Colding-Jørgensen E, Dunø M, Schwartz M et al. Decrement of compound muscle action potential is related to mutation type in myotonia congenita. *Muscle Nerve* 2003;27:449-55.
 28. Bretag AH. Muscle chloride channels. *Physiol Rev* 1987;67:618-724.
 29. Franke C, Iazzo PA, Hatt H et al. Altered Na⁺ channel activity and reduced Cl⁻ conductance cause hyperexcitability in recessive generalized myotonia (Becker). *Muscle Nerve* 1991;14:762-70.
 30. Grunnet M, Jespersen T, Colding-Jørgensen E et al. Characterization of two new dominant CIC-1 channel mutations associated with myotonia. *Muscle Nerve* 2003;28:722-32.
 31. Thomasen E. Myotonia. Thesis. Århus: Universitetsforlaget, 1948:251.
 32. *Oxford Textbook of Medicine*, 4. ed. Oxford: Oxford University Press, 2003.
 33. Nielsen VK, Friis ML, Johnsen T. Electromyographic distinction between paramyotonia congenita and myotonia congenita: effect of cold. *Neurology* 1982;32:827-32.
 34. Lambert EH, Millikan CH, Eaton LM. Stage of neuromuscular paralysis in myotonia. *Am J Physiol* 1952;171:741.
 35. Aminoff MJ, Layzer RB, Satya-Murti S et al. The declining electrical response of muscle to repetitive nerve stimulation in myotonia. *Neurology* 1977;27:812-6.
 36. Pusch M, Steinmeyer K, Koch MC et al. Mutations in dominant human myotonia congenita drastically alter the voltage dependence of the CIC-1 chloride channel. *Neuron* 1995;15:1455-63.
 37. Kwicinski H, Ryniewicz B, Ostrzycki A. Treatment of myotonia with antiarrhythmic drugs. *Acta Neurol Scand* 1992;86:371-5.
 38. MacRobbie DS, Friedlander WJ. Treatment of myotonia with procainamide. *AMA Arch Neurol Psychiatry* 1957;78:473-5.
 39. Gutmann L, Phillips LH. Myotonia congenita. *Semin Neurol* 1991;11:244-8.
 40. Berardinelli A, Gorni K, Orcesi S. Response to carbamazepine of recessive-type myotonia congenita. *Muscle Nerve* 2000;23:138-9.

Heat shock protein 70: en vigtig overlevelseshæder for kræftceller

Cand.scient. Jesper Nylandsted & Marja Jäättelä

Kræftens Bekæmpelse, Institut for Biologisk Kræftforskning, Apoptose Afdelingen

Flercellede organismers overlevelse er afhængig af en præcis balance mellem celleproliferation og celledød for at opretholde den rette vævshomeostase. Igennem de senere år er det vist, at kræftcellers evne til at ekspandere og danne tumorer ikke kun er afhængig af vækstraten, men også af evnen til at forhindre selvmord ved programmeret celledød (PCD) [1].

Defekter i det cellulære dødsprogram kan spille en afgørende rolle for tumorinitiering og progression, fordi PCD normalt er årsag til uskadeliggørelsen af celler med genetiske anomaliteter, som kunne have et malignt potentiale.

De fleste normale celletyper er afhængige af miljøspecifikke signaler for at overleve, og når disse faktorer ikke længere er til stede, elimineres cellen ved PCD. Denne afhængighed tjener til at forhindre celler i at overleve i ikkefysiologiske områder. Skader i PCD-programmet kunne derfor også forøge det metastatiske potentiale for transformerede celler ved

at muliggøre, at celler kan overleve i fremmed væv uden at initiere PCD [1].

De seneste fremskridt inden for PCD-forskning er begyndt at afsløre de molekylære anomaliteter, som fremmer transformationen af en normal celle til en kræftcelle ved at hæmme PCD. I primære tumorer hos mennesker finder man ofte flere forskellige anti-PCD-proteiner overudtrykt, deriblandt *heat shock*-proteiner (Hsp).

Heat shock-proteiner

Gruppen af Hsp udgør en meget udbredt og konserveret gruppe af proteiner, som findes i både pro- og eukaryoter og er fundamental for normal cellelevbarhed [2]. Historisk set blev de identificeret i celler under stresspåvirkninger, hvor de udøver en essentiel beskyttende funktion ved at forhindre aggregering af denaturerede proteiner og ved at assistere i refoldning af misfoldede proteiner. Hsp70-familien er den bedst kendte Hsp-familie, og i mennesker består den af mindst 11 forskellige gener med høj homologi. Proteinerne er involveret i foldning af visse nytranslaterede proteiner, translokation af proteiner over organelmembraner og i opløsning af proteinnagregater og nedbrydning af visse cytosoliske proteiner [3].

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

Hsp70-familiemedlemmer fungerer som chaperoner, og deres aktivitet er baseret på en adenosin 5'-trifosfat(ATP)-reguleret binding til korte hydrofobe områder i substratproteinerne. Herved forhindres misfoldning sandsynligvis ved at forhindre, at de hydrofobe områder interagerer, så proteinet holdes i en foldningskompetent konformation. En kontrolleret binding og efterfølgende frigivelse af proteinet fra Hsp70 forhindrer ikke kun aggregering, men medfører også (re)foldning af substratproteinet [3].

Heat shock protein 70 i kræft

Hsp og specielt den stressinducible Hsp70 (også kendt som Hsp72), men også Hsp27, som tilhører familien af små Hsp'er (18-30 kDa) findes ofte overudtrykt i betydelig grad i maligne tumorer hos mennesker. De har begge evnen til at beskytte celler mod en række forskellige cytotoxiske stimuli såsom forhøjede temperaturer, oxidativ stress og flere typer af kemoterapeutika [4]. Endvidere forøger overudtryk af human Hsp70 eller Hsp27 i musceller deres evne til at danne tumorer i mus efter implantering [1].

Hsp70 er en nyttig prognostisk faktor specielt i brystkræft, hvor højt udtryk korrelerer med en betydelig kortere sygdomsfri overlevelse [5]. Yderligere har patienter med endometrietumorer med høj Hsp70 udtryk en signifikant kortere overlevelse end patienter med lavt niveau af Hsp70.

Det er endnu uklart, hvorfor tumorer i den grad overudtrykker Hsp70, men en delvis forklaring må baseres på de vækstfremmende signaler, som dominerer i kræftceller. Den accelererede proliferation, som karakteriserer en transformeret celle, skyldes en forøget aktivitet af vækstfremmende oncoproteiner eller inaktivering af tumorsuppressorproteiner, og disse defekter resulterer ofte i, at cellen »begår selvmord« ved PCD. Under transformationsprocessen, hvor genetiske defekter gradvist akkumuleres, vil kun de celler, der samtidig har skader i deres PCD-program enten ved inaktivering af pro-PCD-proteiner eller overudtryk af anti-PCD-proteiner som for eksempel Hsp70, udvikle sig til tumorigene celler. Transformationsprocessen kan således betragtes som et autonomt selektionsforløb, hvor de celler, der i mere eller mindre grad har mistet evnen til at »begå selvmord«, favoriseres.

Hsp70 beskytter mod varmestress

Når normale celler udsættes for forskellige stresspåvirkninger såsom varme, oxidativ stress og kemoterapeutika, forøges syntesen af Hsp70 kraftigt, hvilket styrker cellens mulighed for at kunne klare højere koncentrationer af misfoldede og/eller denaturerede proteiner [6]. Hsp70's evne til at beskytte celler mod varmestress er koblet til hæmningen af effektorcaspase-aktivering. Caspaser er cysteinproteaser og hører til de klassiske effektorer af PCD. Aktiveringen af caspaser foregår hierarkisk ved, at PCD-signalet aktiverer en initiatorcaspase, som efterfølgende kløver og aktiverer en effektorcaspase. Aktiverede effektorcaspaser fungerer som destruktionsenzym og

- Hsp70 findes ofte betydeligt overudtrykt i maligne tumorer hos mennesker.
- Specielt i brystkræft korrelerer et højt udtryk af Hsp70 med en betydelig kortere sygdomsfri overlevelse.
- Hsp70 fungerer sandsynligvis ved at hæmme en alternativ dødssignaleringsvej, der involverer lysosomerne.

kløver visse nøglesubstrater inde i cellen, hvilket fører til den karakteristiske morfologi for PCD, hvor kromatinet kondenseres, cellen skrumper og membranfragmenter afsnøres. Hsp70 hæmmer sandsynligvis aktiveringen af caspasekaskaden meget tidligt i forløbet ved at forhindre misfoldede/denaturerede proteiner i at akkumulere og aggregerere.

Hsp70 fungerer i en alternativ dødssignalevej

I modsætning til varmestress, som medfører proteindenaturering, kan Hsp70 også beskytte celler mod ikkedenaturerende PCD-stimuli som for eksempel doxorubicin eller signaler fra dødsreceptorer, hvor eksempelvis tumornekrosefaktor- α (TNF α) binder og aktiverer sin receptor. I disse celledødsmodeller har det vist sig, at Hsp70 kan beskytte, selv om caspasekaskaden er aktiveret og effektorcaspaserne er fuldt aktive. TNF α -behandlede celler, som overudtrykker Hsp70 er således ikke forsinkede i deres dødsproces, men overlever og er i stand til at genoptage en normal vækstrate kort efter TNF-stimuleringen. Tilsvarende har det vist sig, at den specifikke fjernelse af Hsp70 ved *antisense*-teknologi inducerer PCD spontant, og at denne død ikke kan forhindres ved at overudtrykke anti-PCD-proteinet Bcl-2, der ellers kan beskytte kræftceller mod de fleste former for dødsstimuli [7]. Disse data tyder på, at Hsp70 enten beskytter i en senere fase af dødssignaleringen, eller at den fungerer i en helt anden parallel dødssignalevej, der spiller en central rolle i PCD. Nyere resultater indikerer, at PCD kan foregå via alternative dødsveje uafhængigt af caspaseaktivering [8]. Andre proteaser end caspaser har vist sig at have en central betydning i alternativ dødssignalering og disse inkluderer blandt andet lysosomale cathepsiner. I disse systemer viser det sig, at cathepsiner bliver frigivet fra lysosomer efter et PCD-stimuli og translokerer ud i cytoplasmet og/eller kernen, hvor de kløver og inaktiverer proteiner og derved forårsager de karakteristiske morfologiske ændringer [9]. Nyere data tyder på, at Hsp70 sandsynligvis kan hæmme celledøden ved at hæmme denne cathepsinfrigivelse fra lysosomerne.

Hsp70 i en behandlingsmodel

Som nævnt ovenfor medfører en hæmning af Hsp70 en betydelig celledød i tumorceller, hvorimod normale ikketumorigene celler forbliver upåvirkede [7]. På denne baggrund har det været nærliggende at teste effekten af at neutralisere Hsp70 i humane tumorer implanterede i mus. Infektion af de

VIDENSKAB OG PRAKSIS | EVIDENSBASERET MEDICIN

implanterede tumorer med en adenovirus, som overudtrykker anti-*sense*-Hsp70 (Ad.asHsp70) og derved nedregulerer proteinet, har vist sig at have en bemærkelsesværdig effekt [10]. Ad.asHsp70-behandling resulterede i en kraftig reduktion af tumorvolumen i hjerne-, bryst- og colontumorer uden at forårsage nogen målbare sideeffekter. Desuden overlevede mus, som havde fået implanteret glioblastomceller i striatum, dobbelt så længe (55 dage) som kontrolbehandlede mus (26 dage) efter en enkelt injektion af Ad.asHsp70 i tumoren. Det skal her nævnes, at brugen af de nuværende adenovirustyper i kræftbehandling endnu er problematisk primært på grund af den relativt begrænsede infektionseffektivitet og den immunreaktion, der følger af virusinfektionen. Da kræft ofte er en systemisk sygdom, vil det sandsynligvis kræve yderligere udvikling af de eksisterende virussystemer for at forbedre effekten. I forbindelse med lokale inoperable tumorer som f.eks. mange glioblastomer kunne lokal behandling med Ad.asHsp70 imidlertid vise sig at have en gavnlig effekt.

De data, der er præsenteret her, tyder på, at Hsp70 fungerer som en af de kritiske overlevelseshæmmerer, der er relateret til celletransformation, og neutralisering af Hsp70 eller aktivering af den dødssignalvej, som hæmmes af Hsp70, kunne være lovende strategier i fremtidig kræftbehandling.

Korrespondance: Jesper Nylandsted, Apoptose Afdelingen, Institut for Biologisk Kræftforskning, Kræftens Bekæmpelse, Strandboulevarden 49, DK-2100 København Ø. E-mail: jnl@cancer.dk

Antaget: 10. marts 2004
Interessekonflikter: Ingen angivet

Litteratur

1. Jaattela M. Escaping cell death: survival proteins in cancer. *Exp Cell Res* 1999;248:30-43.
2. Gething M-J, Sambrook J. Protein folding in the cell. *Nature* 1992;355:33-45.
3. Bukau B, Horwich AL. The Hsp70 and Hsp60 chaperone machines. *Cell* 1998;92:351-66.
4. Jaattela M, Wissing D, Kokholm K et al. Hsp70 exerts its anti-apoptotic function downstream of caspase-3-like proteases. *EMBO J* 1998;17:6124-34.
5. Ciocca DR, Clark GM, Tandon AK et al. Heat shock protein hsp70 in patients with axillary lymph node-negative breast cancer: prognostic implications. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:570-4.
6. Mosser DD, Caron AW, Bourget L et al. Role of the human heat shock protein hsp70 in protection against stress-induced apoptosis. *Mol Cell Biol* 1997;17:5317-27.
7. Nylandsted J, Rohde M, Brand K et al. Selective depletion of heat shock protein 70 (Hsp70) activates a tumor-specific death program that is independent of caspases and bypasses Bcl-2. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:7871-6.
8. Foghsgaard L, Wissing D, Mauch D et al. Cathepsin B acts as a dominant execution protease in tumor cell apoptosis induced by tumor necrosis factor. *J Cell Biol* 2001;153:999-1010.
9. Leist M, Jaattela M. Four deaths and a funeral: from caspases to alternative mechanisms. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001;2:589-98.
10. Nylandsted J, Wick W, Hirt UA et al. Eradication of glioblastoma, and breast and colon carcinoma xenografts by Hsp70 depletion. *Cancer Res* 2002;62:7139-42.

Monoterapi med carbamazepin eller phenobarbital ved epilepsi?

Lægelig direktør Christian Pilebæk Hansen & professor Peter Wolf

Epilepsihospitalet i Dianalund, og H:S Rigshospitalet, Neurocentret

Der er i Danmark ca. 55.000 personer med epilepsi. For alle disse personer er det afgørende at få en behandling med udsigt til frihed for anfald. Behandlingen består af flere elementer, men den medicinske antiepileptiske behandling har en dominerende rolle. Alle præparater mod epilepsi (antiepileptika) kan imidlertid have bivirkninger, og det ideelle mål med behandling er således absolut anfaldsfrihed uden generende

bivirkninger. På baggrund af en nylig publiceret Cochrane-oversigt vedr. behandling af epilepsi [1] har vi på opfordring af Ugeskrift for Læger udfærdiget nærværende statusartikel.

Ved medicinsk behandling af epilepsi stiles der i første omgang mod at opnå anfaldskontrol ved brug af et enkelt antiepileptikum (monoterapi), idet samtidig brug af flere antiepileptika (polyterapi) øger risikoen for bivirkninger og lægemiddelinteraktioner. Der findes på det danske marked over 15 registrerede antiepileptika, hvoraf phenobarbital (PB) er det ældste, idet det har været tilgængeligt i ca. 90 år. Næstældst er phenytoin, som har været tilgængeligt i ca. 65 år, mens carbamazepin (CBZ) har været anvendt i ca. 40 år. De fleste antiepileptika er således nyere end CBZ.

I den tredje verden anvendes PB fortsat hyppigt, fordi stof-