



Universiteit
Leiden
The Netherlands

TNFalpha-signaling in drug-induced liver injury

Fredriksson, L.E.

Citation

Fredriksson, L. E. (2012, December 6). *TNFalpha-signaling in drug-induced liver injury*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/20257>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/20257>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/20257> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Fredriksson, Lisa Emilia

Title: TNFalpha-signaling in drug-induced liver injury

Issue Date: 2012-12-06

SAMMANFATTNING PÅ SVENSKA

Läkemedelsbiverkningar utgör ett stort problem både för samhället och för läkemedelsindustrin. Om biverkningarna som uppstår är mycket allvarliga blir kostnaderna höga: för läkemedelsbolagen på grund av förlorad inkomst om läkemedlet i fråga måste tas bort från marknaden; för samhället i form av sjukvårdskostnader om biverkningarna leder till sjukhusintagning. Biverkningar medför också mycket lidande för patienten i fråga, vilket inte får glömmas.

Leverskada till följd av läkemedelsanvändning är den vanligaste formen av läkemedelsbiverkan och det är också den vanligaste orsaken till att ett läkemedel måste tas bort från marknaden. Läkemedelsorsakad leverskada kan påverka levern till en sådan grad att den slutar att fungera, kallat leversvikt, något som kan leda till döden. En av leverns viktigaste funktioner är att rena blodet från främmande ämnen, också läkemedel, genom att modifiera dem på ett sådant sätt att de lätt kan utsöndras från kroppen, antingen med urinen eller gallan. Oftast fungerar den här oskadliggörande utsöndringsprocessen som den ska, men ibland kan skadliga biprodukter bildas. Om och varför en allvarlig leverskada inträffar eller inte tros bero på omständigheter rörande individen.

Ibland kan den läkemedelsorsakade leverskadan förklaras, givet att man vet vad som vållar den. Till exempel paracetamol är ett läkemedel som delvis omvandlas till en skadlig biprodukt i levern. Normalt sett kan leverns eget försvarssystem ta hand om den här biprodukten men vid överdosering resulterar detta i att försvarssystemet överhettas, vilket i sin tur leder till akut leversvikt. Detta är i många fall dödligt om den överdoserade inte behandlas snabbt. För andra läkemedel finns det däremot (ännu) ingen förklaring till varför vissa individer får leverskador vid en normal dosering. Leverskadorna uppkommer sällan, men det är mycket allvarligt när de väl inträffar, vilket gör att det är väldigt eftertraktat att försöka undvika dem. Att förstå "varför?" och "hur?" är därför väldigt angeläget, och den kunskapen skulle kunna användas för att designa tester som kan användas inom läkemedelsindustrin för att undvika att skadliga mediciner kommer till försäljning. Min doktorsavhandling handlar just om detta viktiga problem: varför uppkommer läkemedelsrelaterad leverskada och är det möjligt att ta fram tester som kan användas för att se om ett potentiellt läkemedel riskerar att orsaka detta?

Sedan en tid tillbaka vet man att inte bara läkemedelsmetabolism/-modifikation kan skada levern, men också immunsystemet har visat sig spela en viktig roll. Med denna kunskap i åtanke testade vi i **Kapitel 2** hypotesen att samtidig exponering för ett läkemedel som orsakar oförklarlig leverskada, och en cytokin som orsakar inflammation, leder till mer skada av isolerade leverceller än exponering för de två komponenterna var för sig. Vi testade den här hypotesen med hjälp av det sällan leverskadande läkemedlet diklofenak, det "säkra" läkemedlet naproxen och den inflammationsorsakande cytokinen TNF α . Med hjälp av den här modellen kunde vi bevisa vår hypotes. Samtidig exponering av leverceller för diklofenak och TNF α ledde till fler döda leverceller jämfört med exponering för de två faktorerna var för sig. Kombinationen TNF α och naproxen resulterade inte

heller i förhöjd celldöd. I samma kapitel presenterar vi också att den ökade celldöden beror på att diklofenak gör levercellerna mer känsliga för TNF α , snarare än det motsatta: att TNF α gör levercellerna mer känsliga för den skadliga effekten av diklofenak. TNF α är intressant på så sätt att den både kan skicka både överlevnads- och dödssignaler till den cell som är utsatt. Normalt sett väger överlevnadssignalerna över, men diklofenak hämmar dem på ett sådant sett att dödssignalerna tar över istället, vilket leder till ökad leverskada.

Då levern bryter ner läkemedel i sitt försök att oskadliggöra och utsöndra dem, kan som redan sagts, skadliga biprodukter bildas. Dessa orsakar stress inne i cellerna. I **Kapitel 3** beskriver vi att kombinationen av tre olika mikroskoperingsmetoder kan användas för att förutspå om ett läkemedel kommer att ha en leverskadande effekt eller inte. Läkemedel kan orsaka så kallad oxidativ stress. Flera läkemedel, inklusive de som kan medföra oförklarlig leverskada, testades för att se om de kunde orsaka sådan typ av stress med hjälp av ett mikroskop. Det visade sig att många läkemedel, inklusive diklofenak, orsakar just oxidativ stress. Det har redan bevisats av andra att detta kan hämma överlevnadssignalerna som skickas av den inflammatoriska cytokinen TNF α , så därför valde vi att också följa aktiveringen av det här svaret med hjälp av ett mikroskop. Det visade sig att bildandet av oxidativ stress i sig själv inte kunde förutspå om överlevnadssignalerna skulle hämmas. Däremot märkte vi att om de här två metoderna kombinerades med en tredje mikroskoperingsmetod som gör det möjligt att övervaka framkallandet av celldöd, så var det möjligt att säga att de läkemedel som båda orsakade oxidativ stress och hämmade TNF α s överlevnadssignaler, orsakade mer celldöd. Detta demonstrerar att en kombination av olika metoder kan användas för att förutspå möjligheten för ett läkemedel att orsaka leverskada.

Eftersom metoden att övervaka uppkomsten av oxidativ stress själv inte kunde förutspå om mer celldöd skulle bli resultatet av samtidig exponering för läkemedel och TNF α , undersökte vi i **Kapitel 4** om läkemedel också kan orsaka annan typ av stress. För att kunna svara på denna fråga använde vi oss av en metod som mäter genuttrycket hos celler vid en given tidpunkt och ett givet tillstånd. För denna analys använde vi oss återigen av diklofenak, men också av karbamazepin som också orsakar mycket celldöd om det kombineras med TNF α , och som också visats vara allvarligt leverskadande i sällsynta fall. Genom att använda en programvarubaserad analysmetod kunde vi bestämma vilken typ av stress som de här två läkemedlen orsakade i levercellerna. Vi kunde därmed bekräfta att både diklofenak och karbamazepin orsakar oxidativ stress, men det visade sig också att de påverkar uttrycket av gener som är involverade i cellens förmåga att producera nya proteiner. Speciellt en gen, EIF4A1, nådde högre nivåer i levercellerna efter behandling med diklofenak och karbamazepin. Om vi förhindrade uttrycket av den här genen kunde vi intressant nog förhindra de förhöjda nivåerna av celldöd som vi såg vid exponering för diklofenak/TNF α och karbamazepin/TNF α . Detta betyder att uttrycket av den här genen är ytterst viktigt för att cellerna ska dö under dessa förhållanden. EIF4A1 skulle möjligtvis kunna användas som en markör för ett läkemedels möjlighet att orsaka leverskada. Alternativt skulle en mikroskoperingsmetod, liknande den som presenterades i kapitel 3 för att mäta oxidativ stress, kunna designas som

ytterligare ett test för att förutspå blivande läkemedels förmåga att orsaka leverskada.

I kapitel 2 beskrev vi att diklofenak hämmar överlevnadssignalerna från TNF α så att dödssignalerna väger över. Sättet som diklofenak gör detta på är genom att hämma transkriptionsfaktorn NF- κ B som aktiveras till följd av TNF α -exponering, och på så sätt förhindrar uttrycket av de gener som är ansvariga för överlevnadssignalerna. I **Kapitel 5** undersökte vi systematiskt vilka gener som är ansvariga för att aktiveringen av NF- κ B fungerar som den ska. NF- κ B måste röra sig in och ut från kärnan av cellen för att se till att rätt sorts gener uttrycks vid rätt tidpunkt. Genom vår systematiska undersökning fann vi flera nya gener som är involverade i NF- κ Bs rörelsemönster och vi kunde också visa att de påverkar överlevnadssignalerna som skickas från TNF α vid samtidig exponering för läkemedel. Den utökade kunskapen som vi därmed fått om hur NF- κ B regleras, är inte bara viktig för att förstå varför läkemedelsbiverkningar i levern uppstår, men den är också viktig i relation till tillväxt av celler och inflammation, vilka är två processer som är betydande i uppkomst av cancer och kroniskt inflammatoriska sjukdomar, till exempel reumatism.

Sammanfattningsvis presenteras i den här avhandlingen, data som ger en djupare förståelse för varför läkemedelsbiverkningar uppstår i levern, med betoning på den roll inflammation har i processen. Kunskapen som vi har fått kan användas för att designa nya tester som läkemedelsföretag kan använda sig av för att bedöma nya läkemedels förmåga att orsaka leverskada. Dessutom tror jag att de data som presenteras i kapitel 5 kommer visa sig användbara inom andra forskningsområden, inklusive cancer.

