



Tiina Karonen

Klinisk farmakologi
Helsingfors universitet

Disputation 14.12.2012
Helsingfors universitet

Hur CYP-hämmare påverkar farmakokinetiken för montelukast och zafirlukast

Leukotrienreceptorantagonisterna montelukast och zafirlukast har använts för behandling av astma och allergisk rinit i över femton år. På den tiden då de utvecklades fanns det inga regulatoriska anvisningar för studier av läkemedelsinteraktioner. Kunskapen om deras metabolism var baserad på in vitro-studier, där biotransformationen av montelukast och zafirlukast främst var katalyserade av cytokromerna P 450 (CYP) 2C9 och CYP3A4. Följaktligen har förståelsen för CYP-enzymernas betydelse för läkemedelsmetabolismen ökat avsevärt och CYP2C8-enzymets roll blivit identifierad.

Både montelukast och zafirlukast är starka hämmare av CYP2C8 in vitro, men ingendera substansen har uppvisat hämmande effekt på CYP2C8 in vivo. I en kristallografisk studie visade sig montelukast passa in väl i det aktiva centret i CYP2C8-enzymet. Dessa observationer resulterade i närmare forskning kring vilken roll CYP2C8 och CYP3A4 spelar i människans montelukastmetabolism och vilken roll CYP2C9 och CYP3A4 har för människans zafirlukastmetabolism.

Fyra randomiserade, placebokontrollerade crossoverstudier av läkemedelsinteraktioner med friska volontärer genomfördes. CYP2C8-hämmaren gemfibrozil genererade en fyrfaldig ökning i plasmats kurva för läkemedelshalt och tid (AUC) för montelukast och nästan blockerade bildningen av dess huvudsakliga metabolit M4. CYP3A4-hämmaren itraconazol hade ingen effekt på den totala elimineringen av montelukast. CYP2C9-hämmaren flukonazol resulterade i en 1,6-faldig ökning av AUC för zafirlukast, medan inhibition av CYP2C8 eller CYP3A4 inte påverkade farmakokinetiken för zafirlukast.

Resultaten illustrerade rutterna för biotransformationen av montelukast och zafirlukast i människan. CYP2C8 är ansvarigt för cirka 80 procent av montelukastmetabolismen, medan CYP3A4 inte har någon betydande roll. CYP2C9 är det huvudsakliga enzymet i zafirlukastmetabolismen i människan. Samtidig användning av CYP2C8-hämmare och montelukast samt CYP2C9-hämmare och zafirlukast kan öka risken för biverkningar relaterade till läkemedelkoncentrationer. I studier av läkemedelsinteraktioner ska modellsubstraten vara både sensitiva och relativt riskfria: att döma av dessa resultat är montelukast en lovande kandidat som modellsubstrat för CYP2C8.

Resultaten understryker också vikten av studier kring läkemedelsinteraktioner och regulatoriska anvisningar för dem. Speciellt läkemedelsmetabolism som har utvecklats innan anvisningarna getts kan vara bristfälligt karakteriserade, och det kan lämna utrymme för oidentifierade CYP-medierade interaktioner.



Marie Lundberg

Helsingfors universitet
Institutionen för klinisk medicin
Avdelningen för
öron-, näs- och halssjukdomar

Disputation 1.2.2013

**Transformerande tillväxtfaktorn
β1:s genotyp,
16-uttryck samt
behandlingsresultat vid
skivepitelcancer i huvud och hals**

Cancer i huvud- och halsregionen (HNSCC) är en heterogen grupp cancertyper, som främst utgår från skivepitetelet i de övre luftvägarna. I Finland diagnostiseras ca 700 fall årligen. I många västländer är incidensen nedåtgående, vilket antas bero på minskad användning av tobak och alkohol. Detta gäller dock inte orofarynxcancer (OPSCC), där incidensen ökar parallellt med en ökad andel infektioner med humant papillomvirus typ 16 och 18, det vill säga den tredje stora riskfaktorn.

Trots att man gjort framsteg inom behandlingen är femårsöverlevnaden fortfarande endast 66 procent, och i vissa patientgrupper så låg som 34 procent. För närvarande finns det inga molekyllära markörer i klinisk användning, som kunde förutse överlevnad eller hjälpa vid optimering av individuell behandling. I avhandlingen undersöktes i prediktivt avseende de molekyllära markörerna p16, vilket är en surrogatmarkör för infektion med HPV, den epidermala tillväxtfaktorreceptorn EGFR och den nukleära

polymorfismen rs1800470 i genen för den transformerande tillväxtfaktorn β1 (TGFB1). Denna polymorfism påverkar halten av cytokinen TGFβ1, som är avgörande för cellproliferation, immunmodulering, sårhäkning och för att upprätthålla cancerstamceller. Cytokinen har också förknippats med minskad grad mukositet, som är den vanligaste och för behandlingsförloppet mest avgörande, akuta biverkningen vid kemoradioterapi av HNSCC. Vi analyserade också incidensutvecklingen av orofarynxcancer i Finland och dess korrelation med prevalensen av p16-överuttryckande HNSCC.

DNA från leukocyter av 175 konsekutiva HNSCC-patienter genotypades för TGFB1 rs1800470 med PCR. Deras p16- och EGFR-uttryck bestämdes med immunhistokemi. Alla resultat korrelerades med kliniska och histopatologiska karakteristika. Det finländska cancerregistret tillhandahöll incidensuppgifter.

Den åldersstandardiserade OPSCC-incidensen ökade i Finland, likaså proportionen HNSCC som överuttryckte p16. OPSCC-patienter vars tumörer överuttryckte p16 hade en förbättrad överlevnad, men något samband mellan EGFR-uttryck och överlevnad kunde inte påvisas.

OPSCC-patienter som bar på variantallelen av TGFB1 rs1800470 hade signifikant bättre överlevnad än patienter med normalallelen. Detsamma gällde för patienter som behandlats med kemoradioterapi. Fenomenen förklaras varken av att dessa patienter skulle ha haft akut mukositet i lägre grad eller av att behandlingstiden var kortare. Den förbättrade överlevnaden var oberoende av p16- och EGFR-uttryck, även om patienter som bar på TGFB1-variantallelen hade p16-positiva tumörer i en aning högre grad.

Polymorfismen TGFB1 rs1800470 är en potentiell självständig ny prognostisk markör som eventuellt, i kombination med p16-uttryck, kan användas för att förutse förbättrad respons vid behandling av HNSCC med kemoradioterapi.



Linda Mustelin

Hjelt-institutet
Institutionen för klinisk medicin

Disputation 17.11.2012
Helsingfors universitet

**Obesity, physical activity and
cardiorespiratory fitness
in young adulthood:
Studies in Finnish twins
(Fetma, fysisk aktivitet och
kondition hos unga vuxna:
Studier av finländska tvillingar)**

Bakgrund: Övervikt och fetma hör till de största folkhälsoproblemen i västvärlden, och brist på motion är en viktig riskfaktor för fetma och fetmarelaterade komplikationer. Både ärftliga och omgivningsbetingade faktorer påverkar såväl kroppsvikt som motionsbeteende och fysisk kondition. Det har däremot varit oklart i vilken mån sambanden mellan fetma, fysisk aktivitet och kondition beror på arvsfaktorer respektive omgivningsfaktorer.

Syften: Att undersöka arvsfaktorernas och omgivningsfaktorernas relativa inverkan på kroppsmasseindex (BMI), midjeomfång, fysisk aktivitet och aerob kondition, att undersöka huruvida fysisk aktivitet modifierar arvsfaktorernas relativa inverkan på BMI och midjeomfång och att undersöka hur fetma påverkar syreupptagningsförmågan och uttrycket av gener kopplade till mitokondriernas energiproduktion hos unga vuxna tvillingar.

Deltagare: 1 294 tvillingar födda 1983–1987 (FinnTwin12-kohorten); 4 798 tvillingar födda 1975–1979

(FinnTwin16-kohorten); två subsampling av FinnTwin16-kohorten: det ena innefattande 24 enäggstvillingpar, av vilka cirka hälften med en betydande skillnad i kroppsvikt inom paret, det andra innefattande 152 enäggs- och tvåäggstvillingpar som valts ut så att de representerade en bred skala av skillnader i kroppsvikt inom paret.

Mätningar: Kohorterna: Självrapportering av längd, vikt och midjeomfång, motionsindex beräknat utifrån självrapporterad motionsintensitet och träningsvolym och mätning av fysisk aktivitet med Baecke Questionnaire. Subsamplen: Mätning av längd, vikt och midjeomfång samt av kroppssammansättning, insulinkänslighet och syreupptagningsförmåga och analys av genuttryck i fettvävnaden.

Resultat: Fysisk aktivitet minskade arvsfaktorernas inverkan på BMI och midjeomfång. Såväl sambandet mellan motion och syreupptagningsförmåga som det omvända sambandet mellan motion och fetma berodde till stor del på genetiska faktorer. Genetiska faktorer förklarade också 41–64 procent av skillnaderna i fysisk aktivitet mellan individerna. Fetma var associerad med sänkt syreupptagningsförmåga och nedsatt genuttryck av gener kopplade till mitokondriefunktionen i fettvävnaden.

Slutsatser: Arvsfaktorerna har mindre effekt på kroppsvikt och midjeomfång hos fysiskt aktiva individer jämfört med sådana som inte motionerar, vilket tyder på en genomgivningsinteraktion mellan fysisk aktivitet och de gener som disponerar för fetma. Följaktligen gynnar regelbunden motion i detta avseende mest de personer som har stor genetisk risk för att utveckla fetma. Genetiska faktorer påverkar både motionsvanor, fysisk kondition och fetma och ligger bakom en betydande del av sambanden mellan dessa. Övervikt förorsakar försämrad syreupptagningsförmåga och nedsatt funktion i gener förknippade med mitokondriernas energiproduktion.



Kjell Nikus

Tammerfors universitet
Medicinska fakulteten
Tammerfors universitetssjukhus
Hjärtcenter

Disputation 23.11.2012
Tammerfors universitet

12-avlednings-EKG vid akut koronarsyndrom: samband med koronarangiografifynd och prognos

Augustus Desiré Waller, som verkade i London, publicerade 1887 det första elektrokardiogrammet registrerat på en människa i the Journal of Physiology. Själva termen EKG (elektrokardiogram) lanserades av Willem Einthoven i Holland 1903; han införde begreppen P, Q, R, S, T för att beteckna de olika komponenterna i EKG. År 1912 introducerade han EKG-avledningarna I, II och III. Frank N. Wilson, som var verksam i Ann Arbor, Michigan, kompletterade med EKG-avledningarna aVR, aVL och aVF och i slutet på 1930-talet började man använda 12-avlednings-EKG, som fortfarande är standard. Den första finländska EKG-artikeln publicerades av Robert Tigerstedt 1914, och 1932 publicerade Finska Läkaresällskapets Handlingar en artikel om EKG vid koronartrombos av Wilhelm Stockmann.

Mitt eget intresse för EKG-forskning väcktes på 1980-talet och jag publicerade 1990 en artikel om akut kammarflimmer vid hjärtinfarkt i Finska

Läkaresällskapets Handlingar tillsammans med Magnus Lindroos. Sedan snart femton år tillbaka samarbetar jag med professor Samuel Sclarovsky från Israel kring ämnet EKG vid akut hjärtmuskelischemi. I och med den allt aktivare invasiva behandlingen av akut koronarsyndrom har EKG fått större betydelse som hjälpmedel vid diagnostik och riskbedömning de senaste åren.

Tidigare studier har visat att ST-sänkning i EKG försämrar prognosen vid akut koronarsyndrom. I min doktorsavhandling har jag främst undersökt ett specifikt EKG-fynd med utbredda ST-sänkningar, maximalt i avledningarna V4–V5, med inverterade T-vågor samt ST-höjning i avledning aVR. Professor Sclarovsky har infört benämningen circumferentiell subendokardiell ischemi (CSI) för detta EKG-fynd; benämningen global ischemi har också kommit att användas. Ett delarbete i avhandlingen visade att man hos nästan varannan patient, som uppvisade dessa EKG-förändringar övergående i samband med vilosmärta, kunde konstatera en utfallsvariabel (död, reinfarkt, instabil angina, återupplivning p.g.a. hjärtstopp eller stroke) under uppföljningstiden på litet under ett år. Dessutom fanns det ett starkt samband mellan EKG-fyndet och svår kranskärlssjukdom, främst huvudstamsstenos i kranskärlsröntgen. En annan studie visade att EKG-fyndet förekom hos 8 procent av 1 188 patienter med akut koronarsjukdom, som intagits på ett universitetssjukhus.

Det är viktigt att känna igen EKG-fyndet vid global ischemi eftersom det ofta är associerat till svår kranskärlssjukdom. Det är också viktigt att kombinera den information man får från EKG med patientens symtom och kliniska fynd. Hos patienter med global ischemi i EKG i kombination med kliniska tecken på nedsatt vänsterkammarfunktion, såsom lågt blodtryck, andnöd eller dålig syresättning, bör behandlingen likställas med ST-höjningsinfarkt. Kranskärlsröntgen med påföljande ballongvidgning eller bypassoperation bör utföras snarast möjligt. Man bör dock komma ihåg att

liknande EKG-förändringar kan förekomma mer eller mindre konstant hos patienter med organisk hjärtsjukdom, såsom aortaklaffstenos, också utan kranskärlssjukdom. Det är viktigt att jämföra med eventuella tidigare EKG-undersökningar då man handlägger patienter med akut koronarsyndrom och utbredda ST-sänkningar.



Lina Udd-Granat

Peutz-Jeghers polypos och
tumörsuppressorn LKB1

Institutionen för biomedicin
Institutionen för bioteknik

Disputation 9.11.2012
Helsingfors universitet

Peutz-Jeghers syndrom är en ärftlig sjukdom som karakteriseras av benägenhet för att utveckla cancer samt förekomst av pigmentfläckar på huden och ett slags godartade tumörer, polyper, i mag-tarmkanalen. Mutationer i genen för kinasenzymet LKB1 leder till Peutz-Jeghers syndrom. Avhandlingsarbetet undersökte de molekylära funktionerna hos LKB1, observerade uppkomsten av tumörer vid bortfall av LKB1 och omfattade olika ingrepp i denna process. Syftet var att bättre kunna förstå Peutz-Jeghers syndrom och andra LKB1-relaterade tumörmekanismer. Främst arbetade vi med LKB1-knockutmusmodellen, men också till en del med Peutz-Jeghers-patienter och patientvävnadsmaterial.

I den första delstudien (I) undersökte vi vilka proteiner förutom AMPK som kan fosforyleras av LKB1 och fann att dessa är kinasenzym med strukturell likhet med AMPK. I den andra delstudien (II) undersökte vi vilken betydelse proteinet cyclooxygenas-2 har för utvecklingen av polyper vid Peutz-Jeghers syndrom. Vi fann bland annat att man kan minska polypernas tillväxt genom att behandla dem med cyclooxygenashämmaren celecoxib. I

den tredje delstudien (III) studerade vi polypernas epitel. Vi fann att magkörtelcellerna inte klarar av att differentiera sig normalt och att bristfällig celldifferentiering i magslemhinnan kunde observeras tidigare än andra tecken på polyputveckling. Slutligen, i delstudie IV, undersökte vi hur carcinogenet MNU påverkar polyposen och fann att uppkomsten av nya polyper märkbart ökar om slemhinnan utsätts för carcinogen. Den här effekten förekom separat från den COX-2-relaterade mekanismen: Antalet nya polyper ökade framför storleken på polyperna och cyclooxygenas-hämmare hade inte längre någon märkbar effekt på polypbildningen.

Sammantaget har resultaten gett ledtrådar till sättet på vilket LKB1 motverkar tumörbildning: i delstudie I beträffande molekylnivån och i de övriga studierna i fråga om uppkomsten och utvecklingen av polyper vid Peutz-Jeghers syndrom. Resultaten från delstudie III tyder på att slemhinnetan, det vill säga epitelet, aktivt deltar i uppkomsten av polyper, medan resultaten från studierna II och IV visar på att polyperna utvecklas genom samarbete mellan många faktorer, av vilka COX-2 är en, även om reducerad LKB1-funktion ger Peutz-Jeghers-polyperna deras karaktäristiska drag. I sin helhet bidrar resultaten till ökad förståelse för mekanismerna bakom Peutz-Jeghers syndrom, och eventuellt även till att finna helt nya, molekylbaserade behandlingar för Peutz-Jeghers-polyper och andra LKB1-relaterade tumörer.