

University of Groningen

A potential strategy to treat liver fibrosis

Gonzalo Lázaro, Teresa

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2006

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Gonzalo Lázaro, T. (2006). *A potential strategy to treat liver fibrosis: Drug targeting to hepatic stellate cells applying a novel linker technology*. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Chapter 8

Samenvatting

*Don't take life too seriously;
you will never get out of it alive.
(Elbert Hubbard, 1856-1915).*

Lever fibrose is een chronische ziekte waarbij de leverfunctie steeds verder achteruitgaat door beschadiging van gezonde delen van de lever en de daaropvolgende productie van littekenweefsel (extracellulaire matrix). Veel voorkomende oorzaken van lever fibrose zijn: alcoholisme, infecties met het Hepatitis B of C virus, diabetes, obesitas en autoimmuun ziektes. Lever fibrose is de 9e doodsoorzaak door ziekte in de wereld, maar komt in toenemende mate voor door stijging van het aantal mensen met overgewicht en met hepatitis C infecties.

Op dit moment zijn er nog geen goede therapieën voor lever fibrose en veel van de nieuwe experimentele middelen falen in klinische studies. Transplantatie van de lever is op dit moment de enige mogelijke behandeling voor cirrhotische patiënten, maar deze invasieve procedure brengt grote risico's met zich mee voor de patiënt, en is ook zeer kostbaar. Daarnaast is er een groot tekort aan geschikte transplantatie levers. De ontwikkeling van nieuwe therapeutische middelen die lever fibrose kunnen remmen is dan ook een belangrijke medische vraagstelling.

Recente inzichten in de onderliggende mechanismen van lever fibrose hebben geleid tot nieuwe aangrijpingspunten voor antifibrotische geneesmiddelen. Eén van de belangrijke ontdekkingen is de sleutelrol die geactiveerde Hepatische Stellaat Cellen (HSC) spelen bij fibrotische processen. In dit proefschrift worden studies beschreven waarin antifibrotische geneesmiddelen naar de stellaat cellen gestuurd worden middels cel-specifieke drug targeting. Deze gerichte sturing kan de werking van een geneesmiddel verbeteren: een hogere concentratie geneesmiddel in de stellaat cel leidt mogelijk tot een sterker antifibrotisch effect. Daarnaast kan drug targeting de bijwerkingen van een geneesmiddel verminderen, omdat er minder van de werkzame stof in andere weefsels terecht komt. Dit is met name relevant voor antifibrotische geneesmiddelen, die wel werkzaam zijn in klinische studies, maar tegelijkertijd onacceptabele bijwerkingen hebben, omdat extracellulaire matrix vorming een normaal proces is in alle weefsels.

Om de geneesmiddelen af te leveren in stellaat cellen en te zorgen dat ze pas daar beginnen te werken, worden ze gekoppeld aan het eiwit mannose-6-fosfaat-HSA (M6PHSA; HSA is humaan serum albumine). Deze geneesmiddel drager ('carrier') is in

onze groep ontwikkeld en wordt al een aantal jaren succesvol toegepast. In dit proefschrift is daarbij een nieuwe koppelingstechniek toegepast, het zogeheten Universal Linkage System (ULS™). De kern van het ULS is een platina atoom dat coördinatie bindingen kan vormen met het geneesmiddel en de carrier. De reden dat we voor deze nieuwe koppelingsstrategie gekozen hebben is dat veel therapeutisch interessante geneesmiddelen niet geschikt zijn om met de bestaande koppelingschemie aan een geneesmiddeldrager te binden. De synthese van de preparaten is dan technisch moeilijk of zelfs geheel onmogelijk. Dit proefschrift toont aan dat de ULS-techniek een effectieve methode is voor de synthese van geneesmiddel-M6PHSA conjugaten. In een kort tijdsbestek werden drie nieuwe conjugaten met antifibrotische geneesmiddelen ontwikkeld: de geneesmiddelen pentoxifylline, losartan en een tyrosine kinase remmer werden gekoppeld aan de stellaat cel-specifieke geneesmiddeldrager. Naast de chemische en physicochemische karakterisatie werden de conjugaten getest op gekweekte stellaatcellen. Een belangrijk onderdeel van het proefschrift is de evaluatie van de nieuwe producten in diermodellen van leverfibrose.

In **hoofdstuk 1** wordt de doelstelling van het proefschrift toegelicht. De basishypothese is dat geneesmiddelen via ULS aan M6PHSA gekoppeld kunnen worden, en dat de werking van antifibrotische geneesmiddelen verbeterd kan worden middels cel-specifieke aflevering in stellaat cellen.

Hoofdstuk 2 behandelt de achtergronden van lever fibrose en de geneesmiddelen die in dit proefschrift onderzocht zijn. Verder worden de achterliggende principes van ULS coördinatie chemie en drug targeting middels M6PHSA behandeld.

Hoofdstuk 3 beschrijft de ontwikkeling van het conjugaat PTX-M6PHSA. Pentoxifylline (PTX) is een geneesmiddel dat in de lever zowel gunstige (antifibrotische) als ongunstige (profibrotische) activiteit heeft. Drug targeting naar stellaat cellen zou de profibrotische effecten in Kupffer cellen kunnen voorkomen. Omdat PTX-M6PHSA het eerste ontwikkelde preparaat met ULS is, hebben we dit product uitvoerig getest op stabiliteit en geneesmiddel afgifte. In deze proeven bleek al snel dat het geneesmiddel met een langzame snelheid uit het conjugaat vrijkomt. Dit zogeheten vertraagde afgifteprofiel kan

gunstig zijn bij de behandeling van chronische ziekteprocessen. Daarnaast hebben we de mogelijke toxiciteit van het ULS onderzocht, vanwege de overeenkomsten met cytostatische platinaverbindingen. Een groot verschil met zulke cytostatica is echter dat de reactieve groepen van ULS al gebruikt zijn voor de koppeling van het geneesmiddel aan de geneesmiddeldrager, en dus niet meer kunnen reageren met andere producten. Platina toxiciteit van de conjugaten was dan ook niet aantoonbaar. Wel werd er een duidelijk farmacologisch effect van het gekoppelde PTX aangetoond in gekweekte stellaat cellen, waarmee het basisprincipe van dit proefschrift werd aangetoond.

Hoofdstuk 4 & 5 behandelen het conjugaat losartan-M6PHSA. Losartan is een remmer van angiotensine II, en wordt veel toegepast bij de behandeling van hoge bloeddruk. Recent is ontdekt dat angiotensine II ook een belangrijke rol speelt bij de activatie van stellaatcellen, en wordt losartan getest als antifibrotisch geneesmiddel. Het gebruik van losartan door leverpatiënten is echter niet zonder gevaar omdat leverfibrose vaak gepaard gaat met een systemisch verlaagde bloeddruk. Wij hebben daarom onderzocht of losartan specifiek in de lever afgeleverd kan worden, om zo de stellaat cel-specifieke effecten te versterken. Losartan-M6PHSA is onderzocht in twee verschillende diermodellen van leverfibrose, het galgangligatie model (bile duct ligation, BDL) en het CCl₄ inhalatie model. In beide modellen vertoonde losartan-M6PHSA een superieur effect, ondanks de veel lagere dosis van het conjugaat in vergelijking met vrij losartan (niet getarget losartan). Deze observatie toont aan dat de intrinsieke werkzaamheid van een geneesmiddel verbeterd kan worden middels drug targeting.

Hoofdstuk 6 behandelt het derde product, PTKI-M6PHSA. De afkorting PTKI staat voor PDGF Tyrosine Kinase Inhibitor, en verwijst naar een verbinding die sterk verwant is met het geneesmiddel imitinib (Gleevec). PDGF (Platelet Derived Growth Factor) is één van de belangrijkste factoren die aanzetten tot leverfibrose en wordt beschouwd als de meest krachtige factor in stellaat cel proliferatie. Het remmen van PDGF-geïnduceerde effecten in stellaatcellen is dan ook een interessante aanpak van leverfibrose, en kinase remmers zoals imitinib en PTKI zijn daarvoor zeer geschikt. PTKI biedt geen aangrijpingspunten voor de koppeling aan M6PHSA middels klassieke

koppelingsstrategieën. De synthese via het ULS was echter wel succesvol, en het ontwikkelde product werd vervolgens getest in gekweekte stellaatcellen en in weefselplakjes (slices) van levers van fibrotische ratten. In beide systemen was PTKI-M6PHSA effectief. Ook in de daaropvolgende studies in ratten met lever fibrose was het product werkzaam, hoewel de effectiviteit paradoxaal genoeg afnam bij meerdaagse toediening. Een mogelijke verklaring hiervoor is dat de gekozen dosis te laag geweest is. Daarnaast spelen ook andere groeifactoren een rol in lever fibrose, en het kan zijn dat remming van PDGF alleen niet voldoende is om het complexe fibrotische proces te stoppen. Remming van meerdere groeifactoren middels een combinatie van geneesmiddel-M6PHSA conjugaten zou hiervoor een interessante aanpak zijn.

Samenvattend kan gesteld worden dat platina coördinatie chemie een veelbelovende techniek is voor de koppeling van geneesmiddelen aan drug targeting preparaten. Geneesmiddel-ULS conjugaten zijn stabiel maar tegelijkertijd ook bioreversibel, en vertonen een uniek vertraagd afgifteprofiel. De werkzaamheid van de ontwikkelde preparaten is aangetoond in stellaatcellen en in diermodellen, en werd onderbouwd met gegevens over de orgaandistributie van de conjugaten. Verder is aangetoond dat ULS-conjugaten niet per definitie toxisch zijn, hoewel verdere en langduriger studies betreffende de veiligheid van de linker nog wel nodig zijn. De toevoeging van een nieuw linker systeem om geneesmiddelen aan eiwitten te koppelen vormt een belangrijke bijdrage in het huidige onderzoek naar de ontwikkeling van effectieve geneesmiddelen die leverfibrose kunnen tegengaan. Dankzij deze techniek kunnen vele verschillende soorten geneesmiddelen worden gekoppeld and cel-specifieke geneesmiddeldragers.



The author.