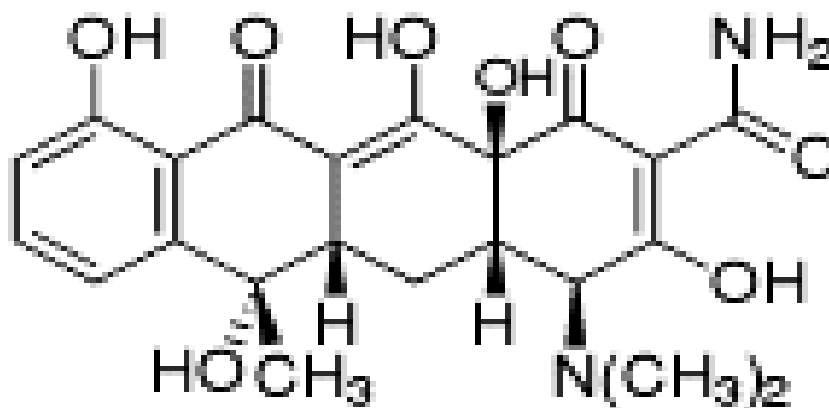


Tetracykliners antiinflammatoriska egenskaper: Nya möjligheter för ett gammalt läkemedel

Viktoria Rawley



Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2012:03

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2012



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Tetracykliners antiinflammatoriska egenskaper: Nya möjligheter för ett gammalt läkemedel

The anti-inflammatory properties of tetracyclines: New possibilities for an old drug

Viktoria Rawley

Handledare:

Carina Ingvast Larsson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examinator:

Mona Fredriksson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: SLU Uppsala

Utgivningsår: 2012

Omslagsbild: http://www.fass.se/LIF/produktfakta/substance_products.jsp?substancelid=IDE4POBVU92G1VERT1

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2012:03
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

On-line publicering: <http://epsilon.slu.se>

Nyckelord: Matrix metalloproteinaser, cancer, NF- κ B, inflammation, kemiskt modifierade tetracykliner.

Key words: Matrix metalloproteinases, cancer, NF- κ B, inflammation, chemically modified tetracyclines.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING	1
SUMMARY	2
INLEDNING.....	3
MATERIAL OCH METODER.....	3
LITTERATURÖVERSIKT	3
Tetracykliner och deras anti-inflammatoriska verkan	3
<i>Kemisk modifierade tetracykliner.....</i>	3
<i>Molekylformen viktig för effekten.....</i>	3
<i>Kemisk modifiering</i>	3
<i>Matrix metalloproteinaser</i>	4
<i>Inhibering av MMP.....</i>	4
<i>Inflammation och apoptos</i>	5
<i>Nuclear Factor- κB (NF- κB) och dess roll.....</i>	5
<i>Inhibering av fosfolipas A₂.....</i>	6
Neurodegenerativa sjukdomar	6
<i>Mikroglia inducerar inflammation</i>	6
DISKUSSION	7
REFERENSLISTA	9

SAMMANFATTNING

Forskningen har under det senaste årtiondet visat på att tetracykliner har antiinflammatoriska effekter i kroppen. Syftet med den här litteraturstudien är att undersöka vilken potential tetracykliner har som antiinflammatoriskt läkemedel.

Genom modifiering av strukturen hos tetracyclinmolekylen kan dess egenskaper förändras. Till exempel kan förmågan att binda till och tas upp i mikrober elimineras. Det har framställts kemiskt modifierade tetracykliner (CMT) som saknar antimikrobiell verkan men som fortfarande kan binda till endogena substrat. Användning av CMT skulle kunna eliminera risken för resistensutveckling då mikrober ej påverkas.

Tetracykliner har visats verka inhibitoriskt på matrix metalloproteinaser, enzymer som har med reglering av extracellulärt matrix att göra. Metalloproteinaser hjälper till med nedbrytningen av basalmembran och underlättar för tumörmetastasering. Deras syntes uppregleras av vissa tillväxtfaktorer som är potenta mediatorer av både cancer och inflammation. Tetracykliner har även setts inhibera NF- κ B vilket ger en ökad apoptosaktivitet och en hämning av inflammation. Det är visat att tetracykliner har god effekt som inhibitor av fosfolipas A₂. Detta enzym katalyserar hydrolyseringen av fettsyrestrar hos fosfolipiderna i membran. I den processen bildas arakidonsyra som är steg ett i syntesen av eicosanoider. Därför fås en minskad inflammation vid hämning av fosfolipas A₂. Dessutom har det visats att tetracykliner kan inhibera aktivering av mikroglia genom att hämma fosforyleringen av mitogenaktiverade proteinkinaser.

Med kunskap om dessa egenskaper finns förutsättningar för att utformning av nya modifierade tetracykliner utan antimikrobiell effekt för användning inom till exempel cancervården skulle kunna bli verklighet. Det finns även viss evidens för framtida möjligheter till behandling av sjukdomar relaterade till inflammation och immunsvaret som t.ex. MS, Parkinson och Alzheimers. Här finns möjlighet att utforma substanser med lägre mängd biverkningar och mer specifika målstrukturer, vilket skulle vara gynnsamt både ekonomiskt och hälsomässigt. Dock är området långt ifrån fullständigt kartlagt och mer forskning behövs.

SUMMARY

Research has, over the last decade, showed that tetracyclines holds anti-inflammatory properties. The main purpose of this literature study is to examine the potential tetracyclines have as anti-inflammatory drugs.

By modifying the structure of the tetracycline molecule its properties can be changed. For example, the ability to bind to and enter microbes can be eliminated. Chemically modified tetracyclines (CMT) have been produced that no longer hold any antimicrobial activity but still is able to bind to endogenous substrates. The usage of CMT should minimize the risk of bacterial resistance developing as the microbes are not affected.

Tetracyclines have been shown to have an inhibitory effect on matrix metalloproteinases, enzymes that regulate the extra cellular matrix. These enzymes are involved in the degradation of the basal membrane and thus facilitate for tumor invasion. The synthesis of MMP's is up-regulated by specific growth factors which are potent mediators of both cancer and inflammation. Tetracyclines have also been shown to inhibit NF- κ B which leads to an increased activity of apoptosis and a decreased inflammatory response. It has been shown that tetracyclines are potent inhibitors of phospholipase A₂. This enzyme catalyzes the hydrolysis of fatty acid esters of the phospholipids of the membranes. This process produces arachidonic acid which is the first step in which eicosanoids are synthesized. Through this mechanism a decrease in inflammation is seen when phospholipase A₂ is inhibited. Furthermore, it has been shown that tetracyclines might inhibit the activation of microglia through mitogen-activated proteinkinases.

With the knowledge of these properties there is potential for development of new modified tetracyclines that could be used in the treatment of e.g. cancer. There has also been some evidence showing that a future treatment of medical conditions related to inflammation and immune response, such as MS, Parkinson and Alzheimer, could be possible. Herein also lays the possibility of developing new substances with a lower extent of adverse effects and more specific target structures, which would be beneficial both economically and from a health aspect. However, this area is still far from fully mapped out and much more knowledge is required before any safe conclusions can be drawn.

INLEDNING

Antibiotika har länge använts inom både human- och veterinärmedicinen. Tetracykliner är en familj antibiotikum som produceras av bakteriearten *Streptomyces*. De upptäcktes redan på sent 40-tal av Benjamin Duggar. Användningen av tetracykliner ökade snabbt efter upptäckten, mycket på grund av att de var billiga och enkla att framställa. Man såg även andra fördelar gentemot då tillgängliga penicilliner, som t.ex. ett bredare spektrum (Bahrami, *et al.*, 2012). På veterinärsidan används tetracykliner idag i stor utsträckning på lantbrukssidan men även inom smådjursmedicinen (Jordbruksverket, 2010).

Sedan en relativt lång tid tillbaka har man kunnat se en ökad tendens till resistens hos olika bakteriestammar mot många antibiotikagrupper, vilket skapar problem inom vården. Dessa läkemedel har därför, med all rätt, använts med viss restriktion. Samtidigt pågår det idag över 200 olika forskningsprojekt om hur tetracykliner skall kunna utvecklas och användas i ännu större utsträckning än vad de redan gör (Bahrami *et al.*, 2012).

Den här litteraturstudien syftar till att undersöka om det kan finnas en framtid för tetracykliner som behandling av sjukdomstillstånd orelaterade till infektion. Fokus kommer att läggas på tetracykliners antiinflammatoriska egenskaper och hur man utifrån kunskap om dessa skulle kunna utveckla nya läkemedel.

MATERIAL OCH METODER

I den här litteraturstudien har databaserna Pubmed, Scopus och ISI Web of knowledge använts för att söka artiklar. De sökord som använts mest frekvent har varit Antimicrobials AND immune system AND immuno* AND clinical effect AND substance AND anti-inflammatory. Artiklar som publicerats efter 2000 har ansetts som mest relevanta och använts i första hand, men undantag förekommer, framförallt på molekylärnivå då mycket av den forskning som gjordes längre tillbaka i tiden fortfarande är aktuell. Genom review-artiklar har en första bild av ämnet skapats och med hjälp av referenslistor från dessa har fler, mer specifika artiklar letats fram.

LITTERATURÖVERSIKT

Tetracykliner och deras anti-inflammatoriska verkan

Kemiskt modifierade tetracykliner

Molekylformen viktig för effekten

För att den ursprungliga, antimikrobiellt verkande, tetracyklinmolekylen skall ha effekt mot mikrober krävs att den är laddad alternativt att den är en så kallad zwitterjon (Acharya *et al.*, 2004). En zwitterjon har både en positiv och en negativ laddning på olika kolatomer, men den totala laddningen är noll, vilket ger molekylen förmåga att t.ex. ta sig över membran. Då tetracyklin verkar bakteriostatiskt genom att hämma proteinsyntesen i bakterien är det essentiellt för effekten att molekylen kan ta sig över membran.

Kemisk modifiering

Insikten om att tetracykliner har effekter som är orelaterade till den antimikrobiella effekten, ledde till forskning för att få fram olika derivat av substansen. Detta gav upphov till de första kemiskt modifierade tetracyklinerna (CMT), substanser med mer selektiva verkningsmekanismer. Genom ett flertal studier har forskare kunnat identifiera de delar av

molekylen som har med antimikrobiell verkan och inhibering av bland annat MMP's att göra. Genom att bland annat avlägsna en dimetylamino-grupp från kol-4 positionen gavs minimal eller ingen antimikrobiell verkan, vilket tros bero på att molekylen nu saknade förmågan att anta en zwitterjonisk form. Däremot kvarstod förmågan att binda till andra ickemikrobiella substrat som t.ex. MMP's (Golub *et al.*, 1991). Enligt Acharya *et al.* (2004) skulle detta kunna göra CMT's till utmärkta behandlingsalternativ vid sjukdomstillstånd där MMP's spelar en roll vid patogenesen.

Matrix metalloproteinaser

Matrix metalloproteinaser (MMP) har stor påverkan på både det medfödda och det förvärvade immunförsvaret. De påverkar även både akut och kronisk inflammation och en ökning av MMP's har observerats vid nästan alla humana sjukdomstillstånd som är kopplade till inflammation (Arvelo *et al.*, 2006). MMP's tillhör en grupp zinkberoende, neutrala endopeptidaser vars huvudsakliga uppgift är att bryta ned extracellulärt matrix (ECM). Detta sker vid både normala och patologiska tillstånd (Hidalgo & Eckhardt, 2001). Det finns idag över 30 stycken identifierade MMP's och dessa delas generellt in i tre huvudgrupper: gelatinaser, collagenaser och stromelysiner. Gelatinaserna (MMP-2 och MMP-9) är de mest välstuderade i samband med tetracykliners inhiberande effekt (Bahrami *et al.*, 2012). Både MMP-2 och MMP-9 har förmågan att reglera endotelial permeabilitet och kan därigenom hjälpa till med inducering av inflammation (Greenwald, 1994; Dorman *et al.*, 2010). Vidare har det gjorts studier för att bestämma MMP's roll vid cancer och tumörmetastasering. Cao *et al.* (2005) visade på att en typ av MMP (MT1-MMP) har förmågan att förstärka cellmigration och metastasering vid prostatacancer, genom att degradera basalmembranet och på så vis underlätta för tumörcellerna att ta sig ut i omkringliggande vävnad. Rooprai *et al.* (2000) visade att tillväxtfaktorer (bland annat *Tumor growth factor α* och β (TGF- α/β), *epidermal growth factor* (EGF) och *vascular endothelial growth factor* (VEGF)) som uttrycks av vissa tumörtyper har en uppregerande verkan på syntesen av MMP-2 och MMP-9, vilka också tros ha en underlättande verkan på tumörinvasion. Den endogena regleringen av MMP's är en komplex kedjemekanism som involverar en rad olika aktiveringskaskader och där en typ av MMP kan verka som substrat och aktivator av en annan typ av MMP. Den endogena inhiberingen styrs av *Tissue inhibitors of metalloproteinase* (TIMP) (Johansson *et al.*, 2000).

Inhibering av MMP

Inhibitorer av MMP's delas in i två kategorier; icke-syntetiska och syntetiska. Till den tidigare hör TIMP's och till den senare bland annat tetracyklinderivat och kemisk modifierade tetracykliner (CMT) (Hidalgo & Eckhardt, 2001). I samma litteraturstudie beskrevs hur det finns ett flertal olika steg i vilka det med fördel går att inhibera MMP's. De mest fördelaktiga är under translationen eller transkriptionen, men det går även inhibera MMP som redan genomgått sekretionsfasen genom att antingen hindra aktiveringen av Pro-MMP eller genom att blockera delar av enzymet och då hindra dess enzymatiska aktivitet. Tetracykliner verkar på translationen eller post-translationellt enligt fig.1.

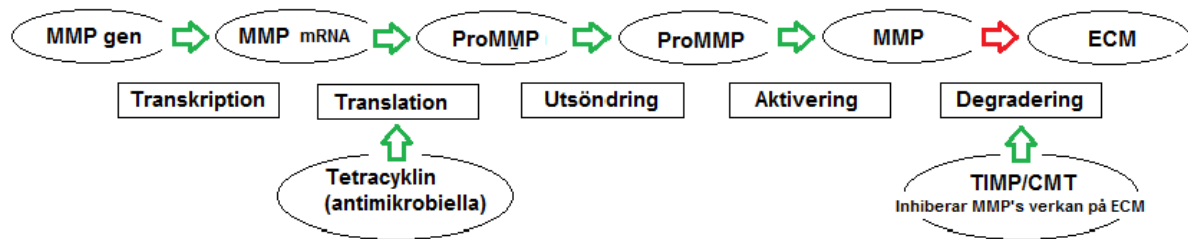


Fig. 1. Möjliga inhiberingspunkter för tetracyklin och CMT's. TIMP/CMT's verkar genom att inhibera MMP's degraderande verkan på ECM. Modifierad efter Acharya *et al.*, (2004)

Inflammation och apoptos

Vid inducering av programmerad celldöd, apoptos, aktiveras kaspaser som är en typ av cysteinproteaser kopplade till celldöd. Dessa reglerar den selektiva proteolysen av intracellulära proteiner. Denna typ av celldöd karaktäriseras av bland annat DNA-kondensation och bildandet av så kallade apoptotiska kroppar. De intracellulära organellerna bryts då ned men hålls fortfarande inneslutna i cellmembran, vilket förhindrar att pro-inflammatoriska och histolytiska molekyler når den omgivande miljön och därmed inte ges möjlighet att verka systemiskt och inducera inflammation (Wyllie *et al.*, 1980).

Nuclear Factor- $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$) och dess roll

NF- $\kappa\beta$ verkar apoptosinhiberande genom att uppreglera gener som har med cellens överlevnad att göra, såsom cIAP-1 och cIAP-2. Den verkar även aktiverande på immun- och inflammationssvaret genom att agera som transkriptionsfaktor för bland annat pro-inflammatoriska cytokiner (Rang *et al.*, 2011) Reglering av NF- $\kappa\beta$ och dess familjemedlemmar fås genom en post-translationell process vilken involverar samspel med en inhiberande proteinfamilj som kallas I $\kappa\beta$ (Hayden & Ghosh, 2008). När en cell stimuleras med NF- $\kappa\beta$ -inducerare, som t.ex. *Tumor necrosis factor alpha* (TNF- α) eller Interleukin 1 (IL-1), startar en signaleringskaskad som i slutänden leder till fosforylering av ett I $\kappa\beta$ -komplex. I $\kappa\beta$ är en inhiberande subenhet bunden till NF- $\kappa\beta$ i cytosolen. Vid fosforylering släpper den ifrån NF- $\kappa\beta$ som då kan translokaliseras till kärnan och utöva sin effekt som transkriptionsfaktor enligt figur 2 (Hayden & Ghosh, 2008). I en studie av Bernardino *et al.* (2009) visades att doxycyklin och minocyklin har inhiberande verkan på både frisättning av TNF- α , vilket indirekt ger en hämning av NF- $\kappa\beta$'s translokation, och direkt på fosforyleringsprocessen av I $\kappa\beta$. Det visades även att bindningen av NF- $\kappa\beta$ till DNA i cellkärnan reducerades av både doxy- och minocyklin.

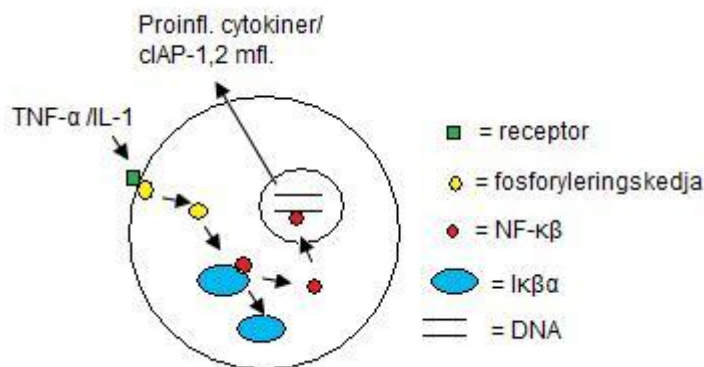


Fig. 2. Stimuli ger en signaleringskaskad som leder till fosforylering av $I\kappa\beta$. $NF-\kappa\beta$ verkar som transkriptionsfaktor för diverse pro-inflammatoriska cytokiner (Hayden & Ghosh, 2008).

Inhibering av Fosfolipas A_2 (PLA_2)

Förutom de inhiberande effekterna som har visats på MMP's och $NF-\kappa\beta$, så har det även gjorts studier beträffande tetracyklinernas inverkan på enzymet fosfolipas A_2 (PLA_2). Det finns olika typer av sekretoriskt PLA_2 , vilka delas in i undergrupper. Pankreas-producerat PLA_2 (p PLA_2 – grupp IB) och icke pankreas-producerat PLA_2 (n PLA_2 – grupp II) har varit av störst intresse för medicinsk forskning de senaste åren. PLA_2 katalyserar hydrolyseringen av fettsyrestrar hos fosfolipiderna i membran. Med detta följer en frisättning av arakidonsyra som är det hastighetsbestämmande steget vid syntes av eicosanoider. Dessa är i sin tur är involverade i patogenesen vid inflammatoriska sjukdomar (Dalm *et al.*, 2010).

Tetracykliner är kelaterande substanser och deras bindning till divalenta metalljoner (t.ex. Mg_2^+) är en förutsättning för deras antimikrobiella verkan liksom laddade eller hydrofila delar vid olika kolatomer (viktigast är kol 1-4 och 10-12) (Brodersen *et al.*, 2000). I ett försök att visa hur tetracykliner interagerar med PLA_2 påvisades att det istället var en bindning vid kol 5-9 som var essentiell. Det visades också att PLA_2 binder till tetracyklin via dess hydrofoba del och att det inte finns någon divalent metalljon bunden till komplexet (Dalm *et al.*, 2010). I samma studie visades också att tetracyklin, genom sin bindning, blockerade det aktiva området hos PLA_2 så att substratet inte kunde binda in och den enzymatiska aktiviteten således förhindrades. I en äldre studie har det visats att både p PLA_2 och n PLA_2 inhiberas i lägre grad av doxycyklin än av minocyklin (Pruzanski *et al.*, 1992). Detta styrks i studien som Dalm *et al.* (2010) utförde, där forskarna visade på att tetracyklinernas struktur bidrar till deras olika egenskaper. Forskarna lyfter framförallt fram att dimetylamino-gruppen som återfinns vid position C7 hos minocyklin, men som saknas hos doxycyklin, spelar en stor roll eftersom den bidrar till att skapa den hydrofoba bindningen.

Neurodegenerativa sjukdomar

Mikroglia inducerar inflammation

Bernardino *et al.* (2009) visade att både minocyklin och doxycyklin påverkade utsöndring av $TNF-\alpha$, IL-6 och IL-8 och att effekten var dosberoende. Monocyter, astrocyter och mikroglia inkuberades med *Borrelia burgdorferi* eller proteinrester från samma art i 24 timmar med eller utan närvaro av antibiotika i olika doser. Alla cellkulturer som utsattes för tetracykliner visade markanta nedgångar i produktion av $TNF-\alpha$, IL-6 och IL-8. Störst effekt iaktogs då doxycyklin sattes till mikroglia, nervsystemets makrofager.

Enligt Smith (2001) aktiveras mikroglia om nervsystemet utsätts för inflammatoriskt stimuli (infektion) eller en neurologisk skada. Dessa celler producerar vid aktivering en mängd olika pro-inflammatoriska cytokiner och cytotoxiner som tros leda till död av både nervceller och gliaceller genom bland annat demyelinisering. Smith (2001) hävdar också att det går att identifiera aktiverade mikroglia hos alla humanpatienter med Multipel Skleros (MS), där pro-inflammatoriska cytokiner, kväveoxid och syreradikaler som produceras skulle vara huvudorsaken till den axonala degraderingen som ses. I en studie visades att minocyklin hade hämmande effekt på både mikroglias aktivering och på sjukdomens utveckling vid allergisk encefalomyelit i olika djurmodeller (Popovic *et al.*, 2002). I denna studie hävdar forskarna att den hämning av sjukdomsförlopp som ses är direkt kopplad till minocyklins förmåga att minska aktiveringen av mikroglia genom att hämma fosforyleringen av mitogen-aktiverade proteinkinaser (MAPK). I en senare studie styrks detta uttalande och forskarna visar på att minocyklins hämmande effekt på MAPK är stimulispecifik (Nikodemova *et al.*, 2006). Där sågs t.ex. en inhibering av MAPK vid stimuli med lipopolysackarider (LPS), men effekt uteblev vid stimuli med H₂O₂. Det studerades även om minocyklins inhiberande verkan kan bero på att effekten ligger ”uppströms” om fosforyleringen i signaleringskaskaden. Forskarna fann att olika isomerer av protein kinas C (PKC) är involverade i regleringen av MAPK och att vissa av dessa kan vara målstrukturer för minocyklin. Däremot utesluts inte att minocyklin kan påverka även andra signaleringsproteiner.

DISKUSSION

Den överdrivna användningen av antibiotika har lett till stor resistensproblematik. Det kan därför diskuteras huruvida det är smart att bedriva forskning på hur man ytterligare ska kunna öka användandet av dessa läkemedel. Idag pågår över 200 olika studier där tetracykliner undersöks (Bahrami *et al.*, 2012). Men med tanke på den kunskap som förts fram de senaste 10 åren angående tetracykliners effekter kan det absolut ses som nyttigt och kanske framförallt nödvändigt att forska i den utsträckningen. De CMT's som idag framställts har minimal eller ingen antimikrobiell verkan beroende på modifieringar av molekylstrukturen. Dessa CMT's saknar förmågan att ta sig över mikrobernas membran och kan därför inte verka inhiberande på proteinsyntesen. Då mikroberna inte påverkas av substansen behöver de heller inte utveckla några försvarsmekanismer emot den. Användning av dessa substanser tros därför inte vara ett problem ur resistenssynpunkt (Dalm *et al.*, 2010). Men eftersom resistens är ett så pass stort problem inom vården idag och området är långt ifrån fullständigt kartlagt, bör mer forskning utföras.

De flesta studier som granskats i denna litteraturöversikt kommer fram till liknande resultat. Vissa forskargrupper är mer försiktiga i sina uttalanden och trycker på att stora delar av området fortfarande är oklara medan andra tar för sig lite mer. Dock är den gemensamma meningen genomgående att tetracykliner med sina egenskaper definitivt är framtiden inom stora delar av läkemedelsindustrin.

Tetracykliners inhiberande effekter på MMP's är förhoppningsvis en ny väg för att förebygga och behandla cancer. MMP's underlättar för metastasering genom att bryta ned basalmembranet och en inhibering av detta skulle kunna revolutionera cancervården. Hittills har forskningen inte levt upp till förhoppningarna, men det har observerats att MMP-inhibitorer (bland annat tetracykliner, men även andra substanser) har samma, och ibland bättre effekt än vissa av de kemoterapeutiska läkemedel som används idag. Det har även visats att MMP-inhibitorer har lägre toxicitet än vissa cytostatika (Acharya *et al.*, 2004). Samma forskargrupp framhåller dock att MMP-systemet är otroligt komplext, och som i fallet med MAPK, är man inte säker på vilka subtyper som bör användas och vart i kedjan man bör

sikta för att uppnå de anticancerogena effekterna som eftersöks. Förhindrandet av inflammationsrelaterade sjukdomar är också något som inhibering av MMP's verkar kunna bidra till. Om det skulle gå att hindra specifika MMP's från att uppreglera permeabiliteten i blodkärl skulle det eventuellt gå att minska inflammationsprocessen utan att påverka kroppen systemiskt i alltför stor grad.

Användning av tetracykliner som inhibitorer av PLA₂ kan absolut ha en framtid. Inhiberingen ger i slutänden en lägre nivå eicosanoider, vilka är en väldigt viktig grupp av målstrukturer när det kommer till att förhindra inflammation (Rang *et al.*, 2011). Om nivå-sänkningen är tillräcklig för att påverka patogenesen vid inflammatoriska sjukdomar utan att kombinera med andra läkemedel bör undersökas närmre. Som med mycket annat i det här området så behövs mer forskning.

Tetracykliners förmodade effekt på mikroglia har undersökts i stor utsträckning. Nikodemova *et al.* (2006) visade att minocyklin hämmar aktiveringen av mikroglia genom olika mekanismer, bland annat genom hämmande av MAPK. Det har i andra studier observerats att just inflammation i det centrala nervsystemet (CNS) till följd av aktiverade mikroglia är en starkt bidragande orsak till sjukdomsbilden vid t.ex. MS, Parkinsons och Alzheimers (Smith, 2001). Om det skulle kunna utvecklas ett läkemedel riktat mot specifika steg i MAPK's fosforyleringskedja, och på så vis hindra aktiveringen av mikroglia, så skulle en bromsmedicin alternativt ett botemedel mot dessa sjukdomar kanske inte vara så långt borta. Dock behövs fortfarande mycket forskning på området, då det fortfarande är oklart exakt vart i kedjan inhiberingen sker. Det har dessutom visats att olika aktiveringsstimuli ger olika grad av effekt från tetracykliner och att olika CMT's dessutom skiljer sig åt effektmässigt (Nikodemova *et al.*, 2006).

Framställning av nya läkemedel genom modifiering av tetracykliner skulle kunna leda till väldigt många kliniska fördelar. En riktad behandling av specifika tillstånd skulle kunna bli möjlig. Då tetracyklinmolekylen kan modifieras i stor utsträckning skulle de biverkningar som idag ses kunna reduceras. Biverkningar av tetracykliner är framförallt gastrointestinal (GI) påverkan (initialt på grund av irritation och på sikt på grund av en rubbad normalflora) och inlagring i ben och emalj på grund av substansernas kelaterande egenskaper (Rang *et al.*, 2011). Då CMT's inte anses påverka mikrober skulle den senare delen av GI-rubbningen kunna elimineras. Behandling av sjukdomstillstånd relaterade till inflammation utan markant påverkan på GI-funktionen skulle göra att behovet av stödmedicinering med t.ex. läkemedel med skyddande funktion på magslemhinnan skulle kunna reduceras. Ett minskat användande av stödmedicinering skulle vara positivt både ekonomiskt och hälsomässigt. Inlagringen som sker i ben och emalj kan även den reduceras för vissa CMT's, beroende på vilken effekt som önskas. Inhiberingen av PLA₂ kräver ingen metalljon bunden till komplexet (Dalm *et al.*, 2010) och därför skulle en modifiering av den kelaterande förmågan kunna utföras. Det är däremot osäkert om detta gäller generellt då metalljonbindningen kan vara essentiell för andra egenskaper. För att fastställa detta hade ett bredare litteraturunderlag behövts.

Att tetracykliner har effekter i kroppen som är orelaterade till sin antimikrobiella effekt är idag en självklarhet. Flertalet större forskargrupper har inom loppet av några år kunnat påvisa effekter på både intra- och extracellulär nivå. Effekter såsom inhibering av NF- κ B, PLA₂ och MMP's talar alla för att tetracykliner kan ha en framtid som läkemedel utanför antibiotikas användningsområden. Större kraft borde läggas vid cancerforskningen och MMP-inhibering då tetracyklin verkar kunna erbjuda ett mer atoxiskt alternativ till behandling, både pre- och postoperativt. Slutsatsen efter den här litteraturstudien är att det definitivt finns en framtid för kemiskt modifierade tetracykliner som antiinflammatoriska läkemedel och att dessa har

potential att vara mer skonsamma mot kroppen samt kunna ge effektivare behandling, men att det än så länge finns alldeles för stora hål kunskapsmässigt som måste fyllas innan detta kan bli verklighet.

REFERENSLISTA

- Acharya, M. R., Venitz, J., Figg D. W., Sparreboom, A., 2004. Chemically modified tetracyclines as inhibitors of matrix metalloproteinases. *Drug Resistance Updates* 7, 195-208.
- Arvelo, F., Cotte, C., 2006. Metalloproteinases in tumor progression. *Review Investigación Clínica*, 2006, 47, 185-205.
- Bahrami, F., Morris, D. L., Pourgholami, M. H., 2012. Tetracyclines: drugs with huge therapeutic potential. *Mini-reviews In Medical Chemistry*, 12, 44-52.
- Bernardino, A. L. F., Kaushal, D., Philipp, M. T., 2009. The antibiotics doxycycline and minocycline inhibit the inflammatory response to the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. *The Journal of infectious Diseases*, 199,1379-1388.
- Brodersen, D. E., Clemons, W. E., Jr., Carter, A. P., Morgan-Warren, R. J., Wimberly, B. T., Ramakrishnan, V., 2000. The structural basis for the action of the antibiotics tetracycline, pactamycin and hygromycin B on the 30S ribosomal subunit. *Cell*, 103, 1143-1154.
- Cao, J., Chiarelli, C., Kozarekar, P., Adler, H. L., 2005. Membrane type 1-matrix metalloproteinase promotes human prostate cancer invasion and metastasis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 93, 770-778.
- Dalm, D., Palm, J. G., Aleksandrov, A., Simonson, T., Hinrichs, W., 2010. Non antibiotic Properties of Tetracyclines: Structural Basis for Inhibition of Secretory Phospholipase A2. *Journal of Molecular Biology*, 398, 83-96.
- Dorman, G., Cseh, S., Hajdu, I., Barna, L., Konya, D., Kupai, K., Kovacs, L., Ferdinandy, P., 2010. Matrix metalloproteinase inhibitors: a critical appraisal of design principals and therapeutic utility. *Drugs*, 70, 949-964.
- Golub, L. M., Ramamurthy, N. S., McNamara, T. F., 1991. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown: New therapeutic implications for an old family of drugs. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 2(2), 297-322.
- Greenwald, R.A., 1994. Treatment of destructive arthritic disorders with MMP inhibitors. Potential role of tetracyclines. *Annals of the New York Academy of Science*, 732, 949-64.
- Hayden M. S., Ghosh S., 2008. Shared principles in NF- κ B signaling. *Cell*, 132, 344-361.
- Hidalgo, M., Eckhardt, G. S., 2001. Development of matrix metalloproteinase inhibitors in cancer therapy. *Journal of the National Cancer Institute*, 93, 178-193.
- Johansson, N., Ahonen, M., Kahari, V. M., 2000. Matrix metalloproteinases in tumor invasion. *Cellular and Molecular Life Science*, 57, 5-15.
- Jordbruksverket (2010) [online]. Tillgänglig:
<http://www.jordbruksverket.se/download/18.e01569712f24e2ca09800011963/Rapport+djurl%C3%A4kemedel+2010.pdf> [2012-03-14]
- Nikodemova, M., Duncan, D. I., Watters, J. J., 2006. Minocycline exerts inhibitory effects on multiple mitogen-activated protein kinases and I κ B α degradation in a stimulus-specific manner in microglia. *Journal of Neurochemistry*, 96, 314-323.
- Popovic, N., Schubart, A., Goetz, . D., Zhang, S. C., Linington, C., Duncan, I. D., 2002. Inhibition of autoimmune encephalomyelitis by a tetracycline. *Annals of Neurology*, 51, 215-223.

- Pruzanski W., Greenwald, R. A., Street, I. P., Laliberte, F., Stefanski, E., Vadas, P., 1992. Inhibition of enzymatic activity of phospholipase A2 by minocycline and doxycycline. *Biochemical Pharmacology*, 44, 1165-1170.
- Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, J. M., Flower, R. J., Henderson, G., 2011. *Pharmacology*. 7. Upplagan. Elsevier.
- Rooprai H.K., Rucklidge, G. J., Panou, C., Pilkington, G. J., 2000. The effects of exogenous growth factors on matrix metalloproteinases secretion by human brain tumor cells. *British Journal of Cancer*, 82, 52-55.
- Smith, M. E., 2001. Phagocytic properties of microglia in vitro: implications for a role in multiple sclerosis and EAE. *Microscopy research and technique*, 54, 81-94.
- Wyllie, A. H., Kerr, J. F., Currie, A. R., 1980. Cell death: the significance of apoptosis. *International review of cytology*, 68, 251-306.