



UPPSALA  
UNIVERSITET

# Hepatitvirus och leverinflammationer

Rahel Alemayehu

---

Independent Project in Biology  
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2011  
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

# Hepatitvirus och leverinflammationer

Rahel Alemayehu

Självständigt arbete i Biologi 2011

## Sammandrag

Levern är ett viktigt organ med en lång evolutionär historia. Organets välmående är därför avgörande för god livskvalitet och välbefinnande. Levern sammanbinder alla kroppens organ genom att utgöra bland annat ett energi- och metaboliskt centrum. Leverinflammationer är en ledande orsak till en stor del av dödligheten runtom i världen. De flesta leverskador orsakas av hepatitvirus. Precis som alla andra virusorsakade sjukdomar, så är det svårt att behandla viral hepatit och därmed kan alla infektioner leda till reversibla men svårartade leverskador och irreversibel hepatisk fibros, levercirros och hepatocellulär cancer. Bestående leverskador leder slutligen till leversvikt och utgången blir letal. De vanligaste virusen som angriper leverceller är hepatit A virus, hepatit B virus, hepatit C virus, hepatit D virus och hepatit E virus. Kunskap om till exempel virusens livscyklar såsom replikation, virusproducerade proteiner, enzymer, involverade cellulära receptorer och infekterade cellers respons, ger möjlighet till att utveckla terapeutiska behandlingar och insikt om hur prevention av spridning kan uppnås. Detta kräver också en förståelse av de komplicerade cellulära och molekylära mekanismerna bakom leverskador. Inledningsvis behandlar denna översiktsartikel leverns morfologi, anatomi och funktioner, dock ligger fokus på beskrivning av hepatitvirus, utbredningen av viral hepatit, smittvägar och de molekylära mekanismerna bakom leverinflammationer.

Nyckelord: lever, energi metabolism, hepatit virus, leverinflammation, hepatisk fibros, levercirros och hepatocellulär cancer.

## Inledning

Alla typer av leverinflammationer har givits samlingsnamnet hepatit. Ordet hepatit har sina rötter i hebreiskans *cheber* och bedöms vara ursprunget till grekiskans motsvarighet för lever, *hepar*. I flera språk spåras en tydlig koppling mellan benämningen av lever och ordet liv eller att leva. Detta kan förklaras med att de allra tidigaste civilisationerna betraktade levern som livets källa, vilket är förklaringen till att teckningar och lermodeller som visar levermorfologi framställdes redan 4-5000 f. Kr. Redan då låg fokus på detaljer på leverns högt förgrenade vaskulära system (Kuntz & Kuntz 2008). Organet uppmärksammades då på grund av sin blodriktedom, vanligen vid ritualer där präster offrade djurblod till gudar. Resultatet av det tidiga intresset avspeglas i att levern är det mest studerade organet med avseende på topografi, morfologi, funktion och sjukdomsförlopp, men också topografiska och morfologiska variationer som observeras hos olika individer. Den moderna hepatologin har haft de tidiga, likväl noggranna iakttagelserna som grund för fortsatta studier. Exempelvis lermodeller av får lever, daterad ca 2000 år f.Kr. har varit grunden till de första studierna om organets placeringsvariation som iaktas hos olika individer. Den antika leverforskningen fortsatte att intressera nyfikna forskare. Exempelvis har dokumentationer om organet hittas i bland annat arabiska, romerska och egyptiska tidiga medicinska studier. Nyfikenheten fortsatte fram till senmedeltid, där bland andra Leonardo Da Vinci sammanställde ett verk med förvånansvärt korrekta iakttagelser av de intrahepatiska kärlsystemen (Kuntz & Kuntz 2006). Bland de

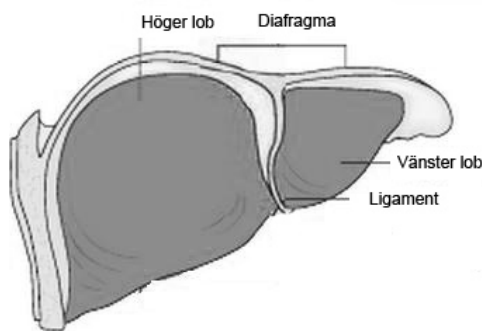
medeltida forskarna var dock Paracelsus (1493 - 1541), som blev först med att konstatera att levern är ett organ där metaboliskt material från framför allt näringsämnen omvandlades till kemiskt material. Han påstod också att det kemiska materialet användes som bränsle av kroppens organ. I sin bok *De origine morborum ex tartaro* (1531) beskrev Paracelsus levern som ett nobelt organ som tjänar nästintill alla kroppens organ, således skador som påverkar levern är extensiva och mångfaldiga.

Precis som antikens forskning antydde är levern ett vitalt organ, dessvärre drabbas organet av många sjukdomar, som med ett samlingsnamn kallas för leverinflammationer eller hepatit. Hepatit är idag ett stort folkhälsoproblem som påverkar miljontals människor. Största delen av hepatiterna orsakas av hepatitvirus. Världshälsoorganisationen (WHO) beräkningar visar cirka en million dödsfall orsakas av viral hepatit årligen. Komplikationer av leverinflammationer uppkommer när sjukdomsförloppet blir varaktigt och infektioner övergår till kronisk fas vilket följs av levercirros och hepatocellulär cancer (HCC). Levercirros kännetecknas av irreversibel ärrbildning i levervävnaden till följd av massivt utplånade av leverceller (Ueki *et al.* 1999). Leverfibros är en annan följd av infektionsförloppet, vilket är en process där levervävnader intar en mer fibrös struktur. Leverfibros präglars av bildning och deposition av kollagen typ I som utsöndras av inflammationsaktiverade lipocyter, också kallad fettlagring-, ito- eller stellat celler. Slutfasen av cirros, vilket mellan 75 % - 80 % orsakas av hepatit B och C virus (HBV och HCV), leder till HCC. HCC är den vanligaste tumörsjukdomen och är ett växande världshälsoproblem. Idag finns cirka 7 kända hepatitvirus, Hepatit A till G varav Hepatit A, B, C, E virus infektioner kategoriseras som orsak till våldsamt omfattande folkhälsoproblem (Venook *et al.* 2010). Till en början klassificerades virusen på basis av smittväg och epidemiologi där man separerade enterisk Hepatit A viruset (HAV) som sprids via den fekal-oral väg från serum Hepatit B virus (HBV) som smittades via blodkontakt (Acheson 2007). Idag bedömer WHO att 1,4 miljoner människor infekteras av HAV årligen och sjukdomen drabbar endast människan. Viruset sprids främst via avloppsförorenat dricksvatten och kontaminerad mat men också person till person, vid nära kontakt med smittade personer och sexuellt. I industriländer har HAV-spridning via nåldelning bland drogmissbrukaren observerats och på senare tid har även hemofili (blödarsjukan) anknutits som smittväg (WHO 2000). Hepatit E viruset (HEV) har också samma smittväg som HAV. HEV är ett stort problem i länder där avföring hamnar i vatten, eftersom viruset liksom HAV kan överleva och vara aktivt utanför sin värd under långa perioder. Det finns också fall där HEV smittas zoonotiskt eftersom samma virus kan infektera till exempel grisar (WHO 2001). Beträffande HBV, få hepatiska virus är lika förödande som HBV och har omfattande global spridning. En undersökning som utfördes av WHO år 2002 visade att två miljarder människor har någon gång infekterats av HBV och av dessa är 350 miljoner människor kroniska bärare, vilket innebär att de kan överföra viruset vidare. Idag lever 75 % av världens befolkning i områden med hög infektionsrisk HCV är också väldigt spridd och bara i Europa lever fyra miljoner människor med viruset och 3 % av världens befolkning är bärare av viruset (Hollinger & Liang 2002). Hepatit D viruset (HDV) som också kallas för Hepatit Delta virus, skiljer sig från andra hepatitvirus. Viruset är defekt och kan inte replikera utan närvaro av HBV. Detta p.g.a. viruset kräver närvaro av HBV:s ytantigen för att syntetisera sitt höljeprotein. I närvaro av HBV kan HDV leda till kronisk cirros som i de flesta fall övergår till HCC. Det finns inte någon vaccination mot HDV när infektionen har övergått till kronisk leverinflammation, vilket lämnar levertransplantation som den enda behandlingen (WHO 2001). Sammanfattningsvis viral hepatit är ett globalt hälsoproblem och det har stor påverkan på livskvaliteten för miljarder människor. I de flesta fall finns ingen effektiv behandling. Därför är det viktigt att ha kunskap om de olika smittvägarna, infektionsmekanismer, och öka

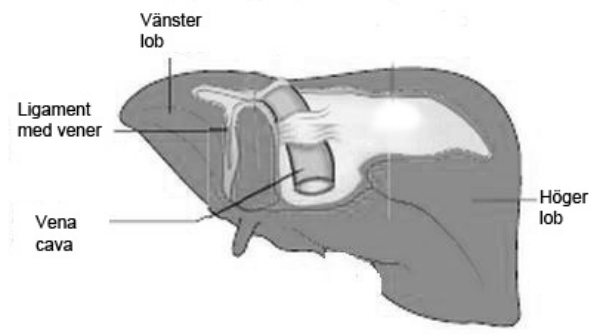
allmänhetens kunskaper om viral hepatit för bättre förståelse och prevention samt utveckling av terapier och botmedel (Sanyal *et al.* 2010).

## Levers anatomi, morfologi och funktioner

Levern är ett mörkbrunt organ som huvudsakligen består av en vänster- och en höger-lob. Den högra loben är sex gånger större än den vänstra, se figur 1 och 2. Organet är kroppens största och ligger under revbenet och skyddas av revbenet. Loberna är separerade av ligament, separationen gäller dock inte tillförseln och tömningen av blod till och från levern. Levern förses med syrerikt blod från leverartären men till skillnad från de flesta organ förses levern också med blod som kommer direkt från tarmarna via portådern. Blodet innehåller då både absorberad näring från nedbrytningen av makromolekyler i matsmältningskanalen och kroppsfrämmande substanser. Leverartären och portådern förgrenas till mindre arterioler och venoler som dränerar blod i leverns sinusoider. Sinusoider är hålrum som är rikt sammankopplade med leverns största makrofager, kupfferceller och hepatocyter. Kupffercellernas strategiska placering i leverns sinusoid-epitelium har som funktion att de blir de första som påvisar närvaro av kropps framände partiklar inklusive virus, bakterie, unicellulära eukaryoter såsom flagellater, sporozoer, myxozoer, amoebozoer etc. Kupffercellerna avlägsnar dessa immunreaktiva partiklar och organismer via fagocytos och fungerar som antigen presenterande celler som ger signal till övriga celler som utgör immunsystemet medan hepatocyter omhändertar detoxifiering av blodet från olika toxiner, t.ex. läkemedel och droger, innan blodet distribueras till resten av kroppen. De hepatiska artiolerna och venolerna är inlindande i ligament tunnlar, därav ingen separation mellan loberna med avseende på tillförsel och tömning av blod. Ligamenttunnlar innehåller även artärer som leder blod till gallblåsan (Sherlok & Dooly 2002).



Figur 1: Levern frontal vinkel  
Baserad på Kuntz *et al.* (2008)



Figur 2: Levern sett bakifrån  
Baserad på Kuntz *et al.* (2008)

Hepatogenes (embryologi, bildning av lever) inleds ca 18 dagar efter befruktning, från en ihålig endodermisk avknoppning från duodenum. Utvecklingen sker sida vid sida med den ihåliga (gallblåsa) systemet som sedan separeras via differentiering av celler. Bipotentiella celler differentieras då till hepatoblaster som senare ger upphov till leverns huvudsakliga celltyp hepatocyter och gallblåsa celler som utgör gallblåsan (Sherlok & Dooly 2002). Det som karakteriserar odifferentierade hepatoblaster är förekomst av cytokeratin (Wang *et al.* 2011), ett protein som utgör det intermediära filamentet i det cytoplasmiska skelettet och epitelvävnader (Liu *et al.* 2011). Förutom hepatocyter (ungefär 60 – 80 %), består levern av sinusoid celler, stellat-celler som också kallas för ito-celler, fettlagringsceller eller lipocyter,

(Friendman *et al.* 1985), kupfferceller (leverns fagocyterande makrofager), lymfocyter som består av NK- celler (Natural Killer), NKT-celler, B- och T-celler (Jiang *et al.* 2007).

Ur metabolisk synvinkel är levern det absolut viktigaste organet för överlevnaden av en organism. Cirka 12 huvudsakliga metaboliska processer (se tabell 1) sker i hepataocyter och ungefär 500 biokemiska processer kan ske samtidigt i en hepatocyt (Kuntz *et al.* 2008). Levern är också centra för regleringen av nästintill alla biokemiska processer som sker i kroppen. Detta gör betydelsen av en frisk lever ovärderlig (Sherlok & Dooly 2002). Några biokemiska processer såsom protein, lipid, och kolhydrat metabolism beskrivs kort i kommande stycken.

Tabell 1: Biokemiska processer som sker i leverns hepatocyter.

Nummer	metaboliska huvudvägar
1	Syra-bas balans
2	Alkohol degradering
3	Aminosyra och protein metabolism
4	Gallans metabolism
5	Bilirubin metabolism
6	Bitransformation och detoxifiering
7	Kolhydrat metabolism
8	Hormon metabolism
9	Lipid och lipoprotein metabolism
10	Porfyrin metabolism
11	Spårämnen och levern
12	Vitamin metabolism

### **Aminosyra och protein metabolism**

Många av kroppens proteiner syntetiseras i levern. Mer än 100 olika plasmaproteiner, nästintill alla kroppen glykoproteiner, och flera transportproteiner syntetiseras i levern. Organet är också centralt för aminosyra/protein nedbrytning för energiutvinning. Ett sätt att karaktärisera proteiner är utifrån metaboliska processer. De aminosyror som kan användas som metabolisk energi genomgår deaminerings process. Det som bildas är alfa-ketosyror som bidrar med 3- och 4-kolskelett som omvaldas till glukos via glukoneogenesen. Aminogruppen genomgår sedan den så kallade aminogrupp-metabolismen, där ammoniak återvinns för senare användas i biosyntetiska reaktionsvägar. Exempelvis små mängder av ammoniak omvandlas till  $\alpha$ -ketoglutarat eller  $\text{PO}_4$  – joner för att producera glutamat eller karboamylfosfat medan all överskott av ammoniak transporteras till levern. En annan viktig proteinmetabolism som sker i levern är den så kallade glukos–alanin cykel som medför ökad koncentration av ammoniak vid nedbrytning av proteiner i muskulatur, exempelvis vid fysisk ansträngning och svält. Ammoniak som utvinns ur denna process ombildas till glutamin via transaminerings processer och transporteras till levern. Glutamin kan också reagera med pyruvat genom donation av alfa-aminogruppen till pyruvat. Reaktionen katalyseras av alanin-aminotransferas och alaninet som bildas transporteras till lever via blodströmmen och används som metabolisk intermediär i metaboliska reaktionsvägar. I och med det största delen av aminosyra metabolismen sker i levern och överskott av ammoniak avsöndras direkt eller

omvandlas till urea i levern som senare utsöndras, vilket är en viktig funktion eftersom överskott av ammoniak är toxisk för kroppens vävnader (Kuntz & Kuntz 2008).

### **Kolhydrat metabolism: Glukohomoestas**

Kolhydrater är vårt viktigaste bränsle. Levern är central för kolhydratmetabolismen och regleringen av den fysiologiska glukoskoncentrationen. Nästintill all kolhydrat som absorberas i tarmarna, transporteras till levern. Levern är också ett lagringsorgan för överskott av glukos i form av glykogen. 35-80 g/kg av leverns vikt utgörs av glykogen vilket oftast används vid nedsatt glukoskoncentrationer vid till exempel träning eller minskad kolhydratintag. Fyra olika kolhydratanknutna metaboliska reaktionsvägar sker i levern, glukogenes, glykogenolys, glukoneogenes och glykolys. Förutom dessa reaktionsvägar är organet starkt associerat med andra energimetaboliska processer såsom pentos-fosfatcykeln, galaktos-, fruktos- och sorbitolmetabolismen. Detta gör även upprätthållande av kroppens glukohomoestas är en av leverns viktigaste uppgifter. ("The liver therefore functions as a glucostat") (Kuntz & Kuntz 2008).

### **Lipid metabolism**

Däggdjur kan inte omvandla fettsyror till glukos för produktion av energi. Fettsyror genomgår biotransformation och ombildas till acetyl-CoA i levern. Fullständig oxidering av fettsyror täcker upp till 80 % av kroppens energibehov under alla fysiologiska förhållanden. Detta inkluderar även överskott av kolhydrater som lagras i form av fett och dess metabolism. Leverns roll vid lipidmetabolismen involverar upptag, oxidation och transformation, syntes av plasma lipoproteiner, transformation av lipoproteiner, katabolism av LDL (Low density lipoprotein) och VLDL (Very Low density lipoprotein) och utsöndringen av enzymer för lipoprotein metabolism. Intag av fett sker i form av triacylglyceroler som absorberas i det intestinala mucosan. Triacylglyceroler bearbetas och blir åtkomliga för enzymer med hjälp av gallblåsesalter som syntetiseras i levern och lagras i gallblåsan. Gallblåsesalter är amphipatiska föreningar och agerar som kroppens egna fettlösningsmedel. Gallblåsesalter binder till triacylglyceroler för att underlätta och möjliggöra åtkomlighet för de vattenlösliga lipaserna. Lipaser klyver triacylglyceroler till monoacylglyceroler, diacylglyceroler, fria fettsyror och glyceroler. Dessa fettformer kan genomgå ytterligare biotransformation och ombildas till acetyl-CoA och användas i glukoneogenesen (Kuntz & Kuntz 2008).

### **Bilirubin metabolism**

Bilirubin är en opolär lipofil molekyl som bildas vid nedbrytningen av erythrocyter (röda blodkroppar) i mjälten, hepatocyter, kupfferceller, njurar och benmärgen. Den lipofila egenskapen tillåter bilirubin att diffundera i cellmembraner, vilket gör ämnet toxiskt för celler. Under normala förhållanden binder bilirubin till serumalbumin och transporteras till det sinusoidala membranet i levern, där molekylerna fungerar som antioxidanter och reagerar med fria radikaler och syreradikaler. Fria radikaler, syreradikaler och fri bilirubin är toxiska för celler. Skadade hepatocyter till exempel till följd av viral infektion visar ökad koncentration av bilirubin. Vid dessa fall aktiveras mekanismer för programmerad celledöd (Kuntz & Kuntz 2008).

### **Porfyrin metabolism**

Porfyrin är ett cykliskt kolväte som utgör den prostetiska gruppen (ko-faktor till ett protein) hos hemoproteiner såsom hemoglobin, myoglobin och cytochrom. Syntesen av hemokofaktorer är speciellt viktigt för hemoglobin och hepatiska hemoproteiner (proteiner med kofaktor till

exempel järnjoner i hemoglobin och krom i cytokrom). Denna process sker huvudsakligen i benmärgen, men också i levern. Det som utmärker leverns speciella funktion i denna process är att 75 % av produktionen av porfyrin går till att bilda proteinfamiljen cytokrom P40(Kuntz *et al.* 2008). Cytochrome P45 är hemgrupp innehållande metallozymer som katalyserar biologiska oxidationsreaktioner såsom aktivering och överföring av syre till sitt substrat, selektiv aktivering och syresättning av steroid- och prostaglandin biosyntes. Bland de viktigaste cytokrom P450 aktiverade reaktionerna hittas inflammatoriska och anti-inflammatoriska reaktioner, trombocyt aggregation och desintegration, vasolidation av vaskulär glattmuskulatur, kontraktion och relaxation glattmuskulatur i den gastrointestinala trakten och broncho-muskulatur, glomerul filtration och reglering av syra utsöndring i matsäcken (Kuntz & Kuntz 2008).

### **Biotransformering, degradering, detoxifiering och xenobiotika**

Kroppsfrämmande substanser som är mest kända under ett samlingsnamn xenobiotika är substanser som elimineras från kroppens vävnader p.g.a. att de inte är nödvändiga för energiproduktion, upprätthållande av molekylstrukturer eller så kan de inte lagras utan att orsaka skador. Vattenlösliga kroppsfrämmande substanser elimineras direkt vid nedbrytning i matsmältningskanalen. Problem uppstår vid avlägsnande av fettlösliga skadliga substanser. Dessa substanser måste först genomgå biotransformation och omvandlas till vattenlösliga ämnen via komplexa mekanismer i levern, vilket gör degradation och detoxifiering är en av leverns viktigaste uppgifter. Ackumulering av kroppsfrämmande substanser eller störning av eliminationsmekanismen som oftast är följderna av leverinflammationer har ett dödligt utfall. Sammanfattningsvis är levern ett mångfacetterat organ och störning av dess normala funktioner t.ex. virus infektioner leder till balansrubning i alla kroppens organ och vävnader (Kuntz & Kuntz 2008).

### **Hepatitvirus, infektionsmekanismer och replikation**

Gemensamt för hepatitvirus är att de är leverspecifika och är svåra att behandla och kan orsaka milda till svåra leverskador. Alla kan orsaka bestående leverinflammationer som kan vara inledningen till leverfibros, levercirros och HCC med slutresultatet leversvikt. Skillnaden ligger i andelen infekterade individer som utvecklar kroniska leverskador och hur väl viruset manipulerar leverns utomordentliga försvarscellorganisation. HAV och HEV har samma smittväg och orsakar oftast milda infektioner som är självbegränsande men infektioner av samma virus kan också leda till bestående leverskador och med dödligt utfall. Detta observeras oftast hos gravida kvinnor, framförallt infektioner av HEV. HCV, HBV och HDV är komplicerade virus med relativt mer komplicerade livscyklar, och en dominerande orsak till kroniskt leverinflammation, HCC och leversvikt (Hultgren 2007).

#### **Hepatit A virus, HAV**

HAV är ett naket virus som hör till släktet picornavirus i familjen picornaviridae och genom består av 7, 2-kilobas enkel- och positivsträngad RNA. HAV visar antigenmässigt ingen eller lite variation, vilket har gjort det möjligt att utveckla effektiv vaccination mot viruset. Replikation sker endast i cytoplasman av hepatocyter via RNA-beroende RNA-polymeras replikering. HAV genom ger upphov till ett en lång öppen läsram (ORF) som translateras till 60 olika strukturella och icke-strukturella proteiner. Läsramen är organiserad i 3 funktionella polyprotein grupper P1, P2 och P3. P1 kodar för kapsid proteinerna VP1 till VP4 och VP3 som exponerar aminosyror Ser102, Ser114 och Asp70 på ytan medan P2 och P3 genererar de icke-strukturella proteinerna såsom det proteinet 3C som är vitalt HAV-proteinas (Schultheiss *et al.* 1993). Exponeringen av dessa aminosyror till proteinytan utgör

konformationsberoende antigen för viruset. Hos en frisk individ detekteras HAV antigener och neutraliseras med hjälp av anti-HAV igG (immunoglobulin G) och anti-HAV igM (immunoglobulin M) inom några dagar av inkubationstid. Komplikationer uppstår vid sam-infektioner (WHO 2000).

### **Hepatit E virus, HEV**

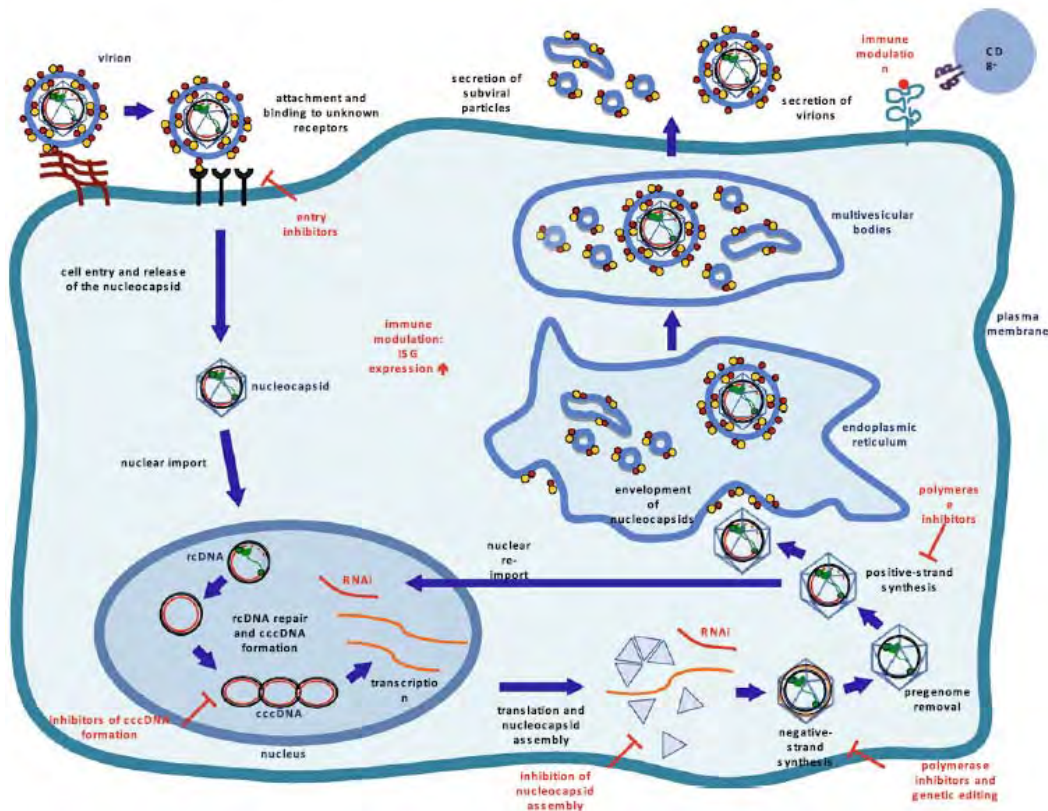
HEV är ett naket virus där genomet består av linjär-, positiv- och enkelsträngat RNA (mRNA). Viruset har idag placerats i det nya virus släktet Hepevirus i familjen Hepeviridae (Emerson et al. 2004). Många stammar av HEV har isolerats där viruset har visat genetisk homogenitet inom sin naturliga värd, medan variation har visats mellan stammar som har spridits till Europa och USA. Variationen kan ha uppkommit via zoonotisk överföring eftersom HEV har människan som sin naturliga värdorganism men påträffas också hos får, getter, grisar, kor, apor och många gnagare (Meng et al. 1997). Vanligtvis är HEV ett stort problem i länder med dåligt saneringsprogram t.ex. i stora delar av Afrika och i centrala och nordöstra Asien och Mexiko. HEV är ett vattenburet virus som hittas i kontaminerat vatten och föda (WHO 2001). Viruset kan också överleva utanför sin värd under långa perioder i t.ex. avföring, därmed kan överföring ske via den fekal-orala vägen som hos HAV (Balyan et al. 1983). Replikation sker i hepatocyter där HEV mRNA resulterar i tre överlappande ORF(open reading frame) där ORF1-translation ger upphov till ett polyprotein som genomgår post-translationell klyvning och utgör de icke-strukturella proteiner som är nödvändiga för replikering. Blad dessa proteiner hittas metyltransferas, proteaser, RNA-helikas och RNA-beroende RNA-polymeras. ORF2 kodar för det strukturella kapsidproteinet som omsluter det viral RNA:t. ORF3 som överlappar med både ORF1 och ORF2 ger upphov till det immunogena fosfoproteinet (Krawczynski et al.2011). HEV orsakar akuta och epidemiska utbrott hos individer i åldrar mellan 15-40 men det övergår sällan till bestående leverinflammation. Detta är dock inte fallet när det gäller gravida kvinnor, där infektion i 20 % av fallen leder till dödlighet. Infektion orsakar också tidiga födslar och spädbarns mortalitet i upp till 33 % av fallen (WHO 2001).

### **Hepatit B virus, HBV**

HBV infektioner är en ledande orsak till många leversjukdomar inklusive HCC. 80 % av alla HCC fall beräknas ha orsakats av HBV. Miljontals människor är kroniska bärare, och detta är ett stort problem ur folkhälso- och socioekonomiskt perspektiv (Hollinger et al. 2002). Viruset hör till familjen hepadnavirus och består av delvis dubbelsträngat cirkulärt DNA. Replikation sker i cellkärna hos hepatocyter och kräver en komplicerad replikationsmekanism med en omvänd transkriptsaktivitet. Vid infektionstillfället sker en simultan interaktion mellan HBsAg (hepatitis B surface protein) och en eller flera receptorer på hepatocyters plasmamembran. Hur HBsAg binder till receptorerna är en mekanism som fortfarande är okänt men proteiner såsom apolipoprotein H, fibronektin, interleukin-6, annexin V och ett okänt 80 KDa protein har associerats med den initiala interaktionen. Som andra steg av infektionsförloppet sker desassociation av nukleokapsiden och frigörande av genomet i cytoplasman. Det cirkulära DNA:t transporteras sedan till cellkärnan och konverteras till dubbelsträngat cirkulär DNA som har fått benämning cccDNA (covalently closed circular DNA). Transkription av genomet sker med hjälp av cellulär RNA- polymeras II som resulterar i fem klasser av HBV mRNA kopior och ett pre-genom mRNA (pg RNA). HBV mRNA molekyler exporteras sedan till cytoplasman där de translateras till strukturella och icke-strukturella proteiner. Det som är anmärkningsvärd med HBVs genom replikation är pg RNA molekylen dubbla funktion. Till skillnad från exempelvis retrovirus HBVs DNA genom interageras inte i värdcellens kromosom utan pg mRNA strängen fungerar som



intermediär templat för syntetiseringen av HBVs DNA genom. pg mRNA molekylens andra roll är att koda för de två huvudsakliga strukturella proteinerna HBc-protein och HBe-protein som utgör nukleokapsiden och omsluter DNA genom. Nukleokapsiden med sitt DNA innehåll transporteras till och endocyteras av membran strukturen ER där proteiner från resterande HBV mRNA såsom HBsAg ansluter sig och fördelas på höljeytan. Denna process resulterar i att viruspartiklarna nu får ett cellulärt membranhålje som transporteras golgi och slutligen utsöndras och kan nu infektera nya celler (Grimm *et al.* 2011).

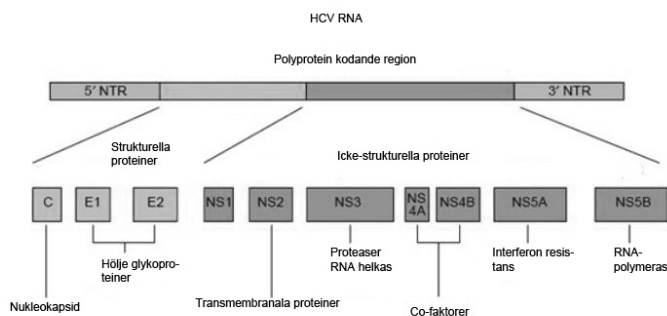


Figur 3: Den komplicerade livscykeln av HBV och eventuella egenskaper som kan utnyttjas för utvecklingen av terapeutiska behandlingar. Infektion inleds med att HBsAg binder till en receptor på ytan av hepatocyter. Viruset använder cellens egna receptorer via en mekanism som fortfarande är oklar (Grimm *et al.* 2011).

## Hepatit C virus, HCV

Studier visar att cirka 170 miljoner människor lever med kronisk HCV och riskerar att drabbas av cirros och hepatocellulär cancer vilket är mer en regel än undantag (WHO 2003). HCV tillhör släktet Hepacivirus inom familjen Flaviviridae och består av positivt enkelsträngat RNA (Lindenbach *et al.* 2005). Forskning kring HCV har varit svårt pga. svårigheter att reproducera viruset under laborieförhållanden och laboriecelltyper (Agnello *et al.* 1998). Detta har lett till att det tog cirka två decennier att fastställa processer såsom virusets livscykel, nyttjade cellulära receptorer och virusets internaliseringsmekanismer (Bartosch & Cosset, 2006). HCV visar stor genotypiska variationer som uppdelas i sex olika genotyper med 80 olika subenheter och alla har visat sig vara hepatotropiska (hepatocyt/lever beroende) och patogena (Ashfaq *et al.* 2011). Det enkelsträngade RNA genom hos HCV fungerar både som mRNA och som genomisk RNA. Genomet translateras till ett polyprotein som består av 3000 aminosyror i granulär-ER där HCV inducerar strukturella ändringar av ER-membranet och leder till bildandet av det så kallade membran-nät struktur i vilket HCV replikerar sitt genom med hjälp av viral RNA-beroende RNA-polymeras (NS5). NS5 enzymet bildar ett replikation komplex i samverkan med både viral och cellulära proteiner och

syntesiserar komplementär negativsträngad RNA molekyl som i sin tur fungerar som templat för positivsträngad RNA syntes. Producerade positivsträngade RNA molekyler translateras av värdcellens ribosomer för att framställa ytterligare virala proteiner eller packas för att producera mogna viruspartiklar (Acheson 2007). Utmärkande för HCV är att translation-initiation sker via cap-oberoende sätt eftersom mRNA molekylen innehåller IRES-element (internal ribosome entry site) vilket innebär också att det inte finns någon konkurrens för translation-initiation mellan cellulär mRNA och viral mRNA (Huang *et al* 2012). Ko- och post-translationell modifieringar och klyvning av polyproteinet sker av både virala och cellulära proteaser och genererar 10 (se figur 5) strukturella- (S) och icke-strukturella (NS) proteiner. Ett 11 protein, p7 fås av en överlappande ORF mellan peptiderna som producerar S och NS proteinerna (Dubisson 2007).



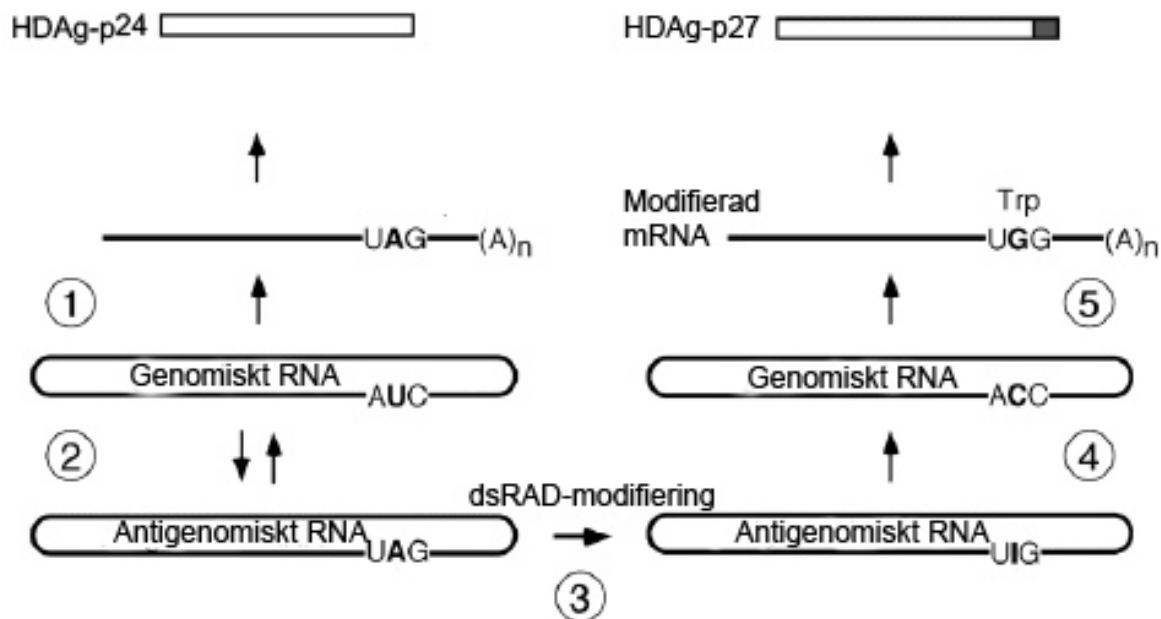
Figur 4: HCV:s mRNA kodar för ett enda långt polyprotein som efter translation klyvs till tio proteiner som delas i icke-strukturella (NS) proteiner och strukturella (E) proteiner (Envelope proteins). Baserad på Ashfaq *et al.* (2011).

De HCV-producerade transmembran-glykoproteinerna C, E1 och E2 utgör viralkapsiden och har den viktigaste rollen i viruset livscykel (Op De Beeck *et al.* 2001). E1 och E2 är fördelade på viruskapsiden och utgör viktiga ligander för cellulära receptorer och viral- internalisering. Internalisering sker via endocytos i vesiklar som följt av fusion mellan HCV innehållande vesiklar och endosomer. Det låga pH-värdet i endosomerna leder till konformation ändring i E1/E2 som omvandlas till den så kallade klass II fusion protein vilket sammanfogar viral och cellulär lipidmembran. Denna process följs av frigörelse och fragmentering av nukleokapsiden i cytoplasman. p7 proteinet dirigerar sedan lokaliseringen mRNA molekylen till ER-lumen där replikation sker (Harrison, 2008). Kapsid proteinerna E1 och E2 samt protein C sammanfogas i glatt-ER och innesluter mRNA genom. Denna struktur transporteras sedan till golgiapparaten från vilket mogna viruspartiklar avknoppas via exocytos och därigenom får viruset sitt cellulära lipidmembran. HCV liksom HBV utnyttjar hepatocytens receptor molekyler vid fästning (Popescu *et al.* 2011). Molekyler som glykosaminglykaner, CD81-tetraspaniner, serum LDL receptorer (Low Density Lipoproteins) och VLDL receptorer (Very Low Density Lipoproteins) och SR-BI (scavenger receptor class B type 1 proteins) uppvisar fungera som receptorer för HCV:s hölje transmembran-glykoproteiner (Ashfaq *et al.* 2011). Många av kroppens celler exponerar dessa receptormolekyler på sin plasmamembran men det är endast hepatocyter som är mottagliga för HCV infektion. Många analyser tyder på att infektionen sker i flera komplexa steg där interaktioner av hepatocyt specifika ko-faktorer krävs för att effektiv fästning av viruspartiklar

och även virusets hela livscykel men exakt vilka faktorer som är involverade är fortfarande en gåta (Bartosch *et al.* 2011).

### **Hepatit D virus, HDV**

Hepatit D virus orsakar livshotande leverinflammationer, viruset har global spridning och drabbar människor i alla åldrar. Ca 30 miljoner människor lever med infektionen och i vissa delar av världen anses spridningen vara endemisk och leder i de flesta fall till kronisk leverinflammation som endast kan avhjälpas med levertransplantation. Viruset är sexuellt överförbart men också kontakt med infekterat blod kan transmitta viruset. Det som är intressant med HDV är att endast människor som är infekterade med HBV är mottagliga vilket innebär närvaro av HBV i hepatocyter krävs för att HDV ska kunna genomföra sin kompletta livscykel. Detta kan förklaras med att HDV genom består av enkelsträngat cirkulärt DNA som omsluts av HBVs kapsid-proteiner. Det cirkulära genomet replikeras via RNA-beroende RNA-syntes där kroppens egna RNA-polymeras manipuleras till att transkribera viralt RNA. Det som utmärker HDV ytterligare är HDV:s cirkulära genom, allmän struktur och replikerings mekanism som påminner mer om viroider (strukturer av nukleinsyror som infekterar växtceller) än virus som infekterar djurceller HDV genomet kodar endast för HDAg proteiner (se figur 7). HDAg (Hepatit Delta Antigen proteiner) är involverade i nyckelroller såsom transportereringen av HDV:s RNA i cellkärnan. Detta innebär också att HDAg inte är involverad i själva infektionsförloppet. HDV omsluts av tre HBV ytproteiner, S-HBsAg, M-HBsAg och L-HBsAg. Dessa är centrala för infektion av värdcell och paketeringen av viruspartiklar. HDV detekterades redan under 1970-talet men än idag vet man inte vilka receptorer som är involverade vid infektionstillfället (WHO 2001). Eftersom HDV har HBV:s ytproteiner misstänks att sammareceptorer fungerar vid fästning, men undersökningar har visat att så är inte fallet även om likheter finns. Det enda proteinet som tyder på likheter mellan infektionsmekanismerna är ytproteinet L-HBsAg som krävs för både HDV och HBV (Heidrich *et al.* 2012). Proteinets främsta funktion är införing av viruspartiklar in i hepatocyternas cytoplasman. En annan spekulation är att den så kallade klatrin-medierade endocytos mekanismen som är kroppens vanligaste endocytos mekanism utnyttjas av HDV. Den vanligaste endocytos mekanismen börjar med bindning av klatrin molekyler till cellmembranet. Detta leder till inbuktning av cellmembranet och vesiklar bildas. Vesiklarna kan paketeras med olika molekyler som släpps vid specifika platser såsom cellernas olika membranstrukturer eller i cytoplasman. Denna mekanism används av många andra välkända virus, exempelvis influensa viruset. Undersökningar har också visat tydliga likheter mellan klatrin-bindande proteiner och HDAg strukturer (Huang *et al.* 2009).



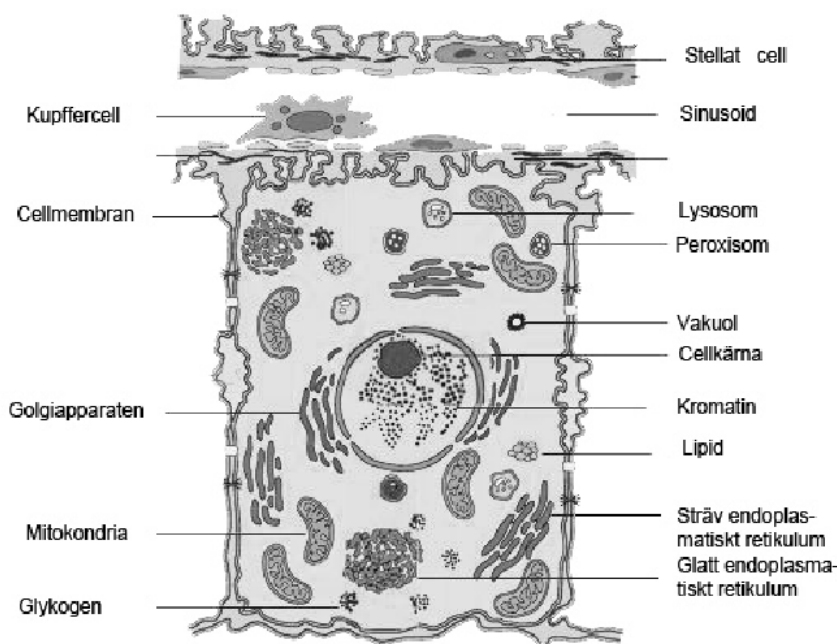
Figur 5: Den komplicerade replikationsmekanismen av HDV. Figuren visar stav liknande strukturer som bildas på grund av att RNA genom kan binda till sig själv. För att enklare förstå replikationsmekanismen, delas processen i editerad och icke-editerad. Den icke-editerade genom måste först vara transkriptionellt kompetent och transkriberas till mRNA som senare translateras till HDAg-24 vilket är avgörande för replikeringen, genom polymerisationsverkan av kroppens egna polymeras II. Editeringen innebär att adenosin byts ut mot inosin som leder till HDAg-p27 mRNA transkriberas. HDAg-p27 är nödvändig för paketeringen av komplett virus. Baserad på WHO-dokumentet 2001\_1.

## Definition av leversvikt och leverskada, akut eller kronisk?

Inflammation av levern kan uppstå och självläka många gånger utan att vi ens märker av det. De flesta komplikationer uppstår när inflammationerna förlängs, vilket är orsaksoberoende. Förlängd leverinflammation innebär början till levercirros, HCC och slutligen leversvikt, vilket kan vara akut eller kroniskt. Att definiera akut eller kroniskt leversvikt har varit svårt och än idag finns ingen slutgiltig definition, likväl delas det i dessa två klasser. Alla typer av lever inflammationer kan leda till den ena eller det andra, således klassificeringen syftar på hur länge och hur varaktigt skadan är (Thorgeirsson *et al.* 2006). Levercellernas respons till varaktig inflammation är framförallt hepatocyt apoptos och nekros. Varaktig leverinflammation aktiverar celldöd mekanismer hos leverceller, celldödreceptor apoptos, intracellulär stress aktiverad apoptos och hepatisk fibros. Hepatisk fibros är resultatet av överproduktion av kollagen typ I av lipocyter och myofibroblaster som aktiveras av immunförsvarsceller. Det som är viktigt att skilja mellan i denna process är programmerad celldöd (apoptos) genom immunsystemet städar bort infekterade celler och inducerad apoptos. Hepatitvirus kräver undkomma immunsystemets försvarsceller för att kunna etableras och ge upphov till leversvikt, cirros eller HCC, vilket innebär att immunförsvarets celler aktiveras främst efter levercellernas apoptos än före infektionen. Detta innebär också att levercellernas apoptos är inducerade av proapoptotiska celldödreceptor mekanismer. Utfallet blir levercirros som så småningom övergår till leversvikt och/eller HCC som inverkar på hela organet och därmed alla kroppens organ är påverkade (Malhi & Gores 2008).

## Celldödsmekanismer vid leverskada

Apoptos och nekros är celldöd mekanismer där största skillnaden ligger i cellmorfologin. Apoptos syftar på rundare struktur av celler som är känt under benämningen pyknos, vilket innebär krympning av cytoplasman, kromatin kondensering och karyoohexi (fragmentering av cellkärna). Ordet nekros används för att beskriva svullnad av celler pga. störd cellulär jongradient system (karyos) som leder till att cellen slutligen spricker. Leversvikt är resultatet av massiv apoptos och nekros av framförallt leverns hepatocyter (se figur 8). Infekterade hepatocyter genomgår en av två eller en kombination av celldöds mekanismer nämligen celldödreceptor dirigerad apoptos/nekros och intracellulär- stress aktiverade apoptos/nekros (Malhi *et al.* 2006).



Figur 6: En schematisk bild av en hepatocyt cellorganisation med molekyler såsom lipider, glykogen och organisation av organeller, tillsammans med kupfferceller, endoteliala celler, Stellatceller (ito-celler, lipocyter). Hepatocytcelldöd är starkt associerad med bland annat dysfunktionellt Endoplasmatiskt Retikulum (ER), lysosom, mitokondrier och plasmamembran. Inringade termer kommer att tas detaljerat i efterföljande stycken. Baserad på (Kuntz *et al.* 2008).

## Mitokondriell kollaps: det avgörande steget vid hepatisk celldöd

Ovan nämnda mekanismer har gemensamt att normala mitokondriefunktioner upphör p.g.a. ändringar i yttre- och inre-mitokondriemembranens genomsläpplighet (Mahli *et al.* 2006). Permeabiliteten kan orsakas av celldödreceptors signalkaskader, lysosomal permeabilitet, ER-stress eller aktiveringen av intracellulära, inflammatoriska cytokiner som sammanbinds slutligen i det som kallas JNK- (c-jun N- terminalt kinas) signalvägen. Detta innebär graden av skada på organeller såsom ER och lysosomer är en viktig komponent i den mitokondriella permeabilisationen. Bland många intracellulära stimuli och proapoptotiska proteiner som leder till mitokondriell kollaps hittas proteinfamiljen Bcl-2. Bcl-2 proteinfamiljer spelar nyckelroll vid inducerad celldöd och hör till celldödreceptor mekanismen. Under normala omständigheter hör Bcl-2 proteinfamiljen till signalproteiner som indikerar mitokondriella funktionsrubbnings (Adams & Cory 2007). Bcl-2 proteinfamiljen delas i proapoptotiska och antiapoptotiska proteiner (se tabell 2). De proapoptotiska proteinerna delas ytterligare i de

multidomäna proteiner Bak och Bax och proteingruppen BH-3. De proapoptotiska proteinerna Bak, Bax och BH-3 är avgörande vid celldöd. Exempelvis Bax som vanligtvis hittas i cytoplasman translokeras till mitokondriemembranet, om aktiverad av BH-3 proteiner medan Bak är ett membranbundet protein som också aktiveras för att senare inducera celldöd. Vid omfattande infektion aktiveras både proteinerna och skapar porer på organellens yttremembran, vilket leder till permeabilitet. Den förväntade responsen när Bax och Bak aktiveras är att de antiapoptotiska proteinerna skall förebygga skadat mitokondriemembranstruktur. Problemet uppstår när mängden av bundna BH-3 proteiner överskrider normala koncentrationer. Överskriden koncentration av bundna BH-3 proteiner leder till mitokondriell kollaps som följs av celldöd. Detta gör att mitokondriell yttre- och innermembranskada hos hepatocyter är det slutliga steget som krävs vid levercelldöd. Sammanfattningsvis kan man säga att mitokondrier är kända för sina komplexa membranstrukturer och vitala metaboliska funktioner men mitokondrier bevarar också proapoptotiska proteiner i det intermembranala utrymmet. Skadad mitokondriemembran innebär att den strikt kontrollerade transporten av molekyler störs och blir inledningen till apoptos-inducerande proteiner släpps ut i cytoplasman (Malhi *et al.* 2006).

Tabell 2: Bcl-2 proteinfamilj, pro-apoptotiska och anti-apoptotiska proteiner.

<b>proapoptotiska</b>	<b>antiapoptotiska</b>	
	BH-3	multidomän
Bcl-xL	Bid	Bax
Mcl-1	Bim	Bak
Bcl-w	Puma	Bok
Bcl-2	Noxa	Bcl-x <sub>s</sub>
A1	Bad	
Boo	Bik	
	Bmf	
	Hrk	

### **Lysosomer släpper ut farliga proteaser vid virusangrepp**

Förutom mitokondriell permeabilitet, organeller såsom lysosomer och ER spelar en avgörande roll vid hepatocyt celldöd. Det är vanligt att lysosomal abnormitet observeras vid kronisk leverskada, detta till följd av bland annat virusangrepp. Det är också ett vanligt fenomen som karakteriseras vid olika typer av cancer (Guicciardi *et al.* 2004). Lysosom skador kan ske även innan inblandningen av mitokondriell permeabilitet och kan aktiveras av celldödreceptor mekanismen, men också av faktorer såsom fria fettsyror, sfingosiner/sfingolipider, fria syreradikaler och lysosomotropiska ämnen exempelvis basiska aminer kan inducera lysosomal funktionsbrist (Liu *et al.* 2011). Lysosomal permeabilitet kan delas i kollektiv och selektiv. Vid kollektiv lysosomal permeabilitet frigörs framförallt proteinet katepsin-B. Katepsin-B fungerar som proteas under normala förhållanden vilket innebär utsläppet av det är strikt kontrollerad. Okontrollerad närvaro av höga katepsin-B koncentrationer leder till lysosomal membrannedbrytning och slutligen nekrotisk celldöd. Selekterad lysosomal permeabilitet kan bland annat aktiveras av apoptosinducerande aktivator- kaspas proteiner och cytokrom-c som släpps ut i cytoplasman från det innermembrana utrymmet av mitokondrier (Guicciardi *et al.* 2000).

## **Endoplasmatiska Retikulum och UPR vid virusangrepp**

Inblandningen av ER vid celldöd inom kroniska leverskador är ett pågående forskningsområde. Den forskning som finns idag tyder på att ER-stressinducerade celldöd beror bland annat på en obalanserad fördelning mellan veckade proteiner och mogna proteiner. Proteiner transporteras till ER för att genomgå post-translationala modifieringar såsom veckning. Obalansen aktiverar den så kallade UPR (unfolded protein response) mekanismen. En ökad koncentration av icke-modifierande proteiner utgör sedan en signalkaskad som slutligen leder till celldöd. Andra faktorer som sammankopplas med ER:s inblandning vid celldöd är ER-sensormembranproteiner, IRE1, ATF6 och PERK. Dessa fungerar som signalöverföringsmedium. Exempelvis aktiveringen av IRE1 leder till klyvning av ett mRNA som kodar för den väl konserverade transkriptionsfaktorn XBP1. Translaterad XBP1 mRNA fungerar som transkriptionsinhibitor för en grupp av gener. Vid klyvning fungerar den istället som transkriptionsaktivator för samma grupp av gener vilket skapar obalans och stress. UPR är också en välkonserverad ER-respons mekanism som aktiveras av ATF6. Aktiveringen av UPR innebär ER-kollaps p.g.a. ovannämnda orsaker. Aktivering av PERK har också proteinrelaterade konsekvenser. Den eukaryota translation-initieringsfaktorn 2 $\alpha$  reglerar proteiners globala syntes. Aktivering av PERK leder till fosforyleringen av denna translation-initieringsfaktor, vilket leder till nedsatt syntetisering av nya proteiner. ER stress kan också leda till ökad tillverkning av döds-receptor proteiner, och minska degraderingen av skadliga proteiner som till slut leder till celldöd (Malhi *et al.* 2006).

## **Plasmamembran celldödreceptorer: Cytokiners roll vid hepatisk celldöd**

I de flesta fall övergår varaktiga leverinfektioner till leverinflammationer. Vid detta stadium är effektorceller först att rekryteras till den inflammerade vävnaden. Aktiverade effektorceller såsom Kupfferceller, NK-celler och NKT-celler migrerar då till det inflammerade området och dödar och fagocyterar inflammerade celler. Rekryteringen sker med hjälp av inflammatoriska cytokiner och bland dessa hittas celldödreceptorerna och dess ligander. Cytokinerna TNF- $\alpha$ , FASL och TRAIL och ett samarbete med dess receptorer inducerar celladhesion, cellmigration, apoptos och nekros.

Precis som ER:s roll vid levercelldöd så är inblandningen av plasmamembran celldödreceptorernas inverkan ett intensivt forskningsområde. Det som förvånar forskarna idag är den oförutsedda påverkan av celldödreceptorliganden TRAIL (Tumör nekros faktor beroende apoptos-inducerande Ligand) och dess receptorer bland andra TNFR1 och TNFR2 och TNF- $\alpha$  som bland annat är en ligand för Fas-receptorfamiljen FasL (Zheng *et al.* 2009). TRAIL och Fas proteiner hittas i överskott vid undersökningar av nybildning av tumörceller, där de inducerar celldöd. Det är känt att normala celler inte uppvisar närvaro av TRAIL eller Fas proteiner (Saitou *et al.* 2005). Med normala celler menas här icke-tumörceller, att celldödreceptorerna aktiveras även vid virala infektioner av hepatiska celler är därför överraskande. TRAIL-inducerad celldöd startar med aktivatorproteinet kaspas 8 aktiverar en eller flera TNFR-receptorer och skapar ligand-receptor komplex. Bindningen leder till en intracellulär signalkaskad skapas som i sin tur rekryterar, aktiverar och translokerar de mitokondriella proapoptotiska proteinerna (se tabell 2) (Werneburg *et al.* 2007). Aktiveringen av kaspas8 som resulterar i klyvningen av Bid till tBid leder till translokering av proteinet till det mitokondriella yttremembranet. Detta leder så småningom till mitokondriell permeabilisering och celldöd. Den andra vägen TRAIL kan inducera celldöd är via Bax-beroende lysosomal permeabilisering (Zheng *et al.* 2004).

TNFR1 och TNFR2 är också receptorer till den tidigare nämnda TNF- $\alpha$ . Både receptorerna uttrycks av hepatocyter men endast TNFR2 innehar möjligheten till att aktivera apoptotiska kaskadreaktioner. Det som är utmärkande med TNF- $\alpha$  är också dess icke-toxicitet mot friska hepatocyter medan infekterade hepatocyter upplever toxicitet och begår nekrotiskt celldöd. Komplexbildningen mellan TNF- $\alpha$ /TNFR2 leder till celldöd i två steg. Det första steget resulterar i rekryteringen av TNFR-associerade proteinerna TRAF2, transkriptionell aktivering av antiapoptotiska gener, interaktion mellan receptorer, och aktiveringen av kärnfaktorn kappab (aktiverar cytokiner). Vid den transkriptionella aktiveringen av de antiapoptotiska proteinerna produceras alla antiapoptotiska proteinerna som är listade i tabell två och ytterligare två proteiner, XIAP och cFLIP. I det andra steget sker apoptotisk signalering via adapter proteinet TRADD som är en TNFR- associerad celldöd proteindomänen, kaspas8 aktivering eller FADD som är Fas-associerad celldöd proteindomänen. Ytterligare induceras hepatisk celldöd av TNF- $\alpha$ . De exakta molekylära mekanismerna bakom detta är hittills oidentifierat men har observerats vid hepatocyt celldöd, nämligen aktiveringen av Nox1 (Nikotinamid adenin dinukleotid fosfatoxidase) som inducerar celldöd genom bildning av reaktiva syreradikaler (Micheau & Tschopp 2003).

NK celler, NKT celler och T-lymfocyter är viktiga komponenter i levern både vid sjukdom men också vid hälsa. Inflammationer i levern drabbar i första hand hepatocyter, sinusoidceller och lipocyter. Dessa celler tillsammans med Kupfferceller uttrycker celldödreceptorproteinfamiljen Fas. Leverceller är speciellt känsliga för Fas uttryck. Därför hittas lösligt Fas i överskott vid viral hepatit. FasL-receptorn hittas hos T-lymfocyter och NK-celler. Fas aktiveras när den binder till den membranbundna liganden FasL eller lösligt FasL som finns cytoplasman binder till Fas-receptorn (Szabo *et al.* 2007). Aktiveringen av Fas-receptorn ger upphov till celldöd men det som är utmärkande med Fas-inducerad celldöd är skadade hepatocyter igenkänns lättare av NK-celler, NKT celler och T-lymfocyter och fagocyteras (Lapinski *et al.* 2004).

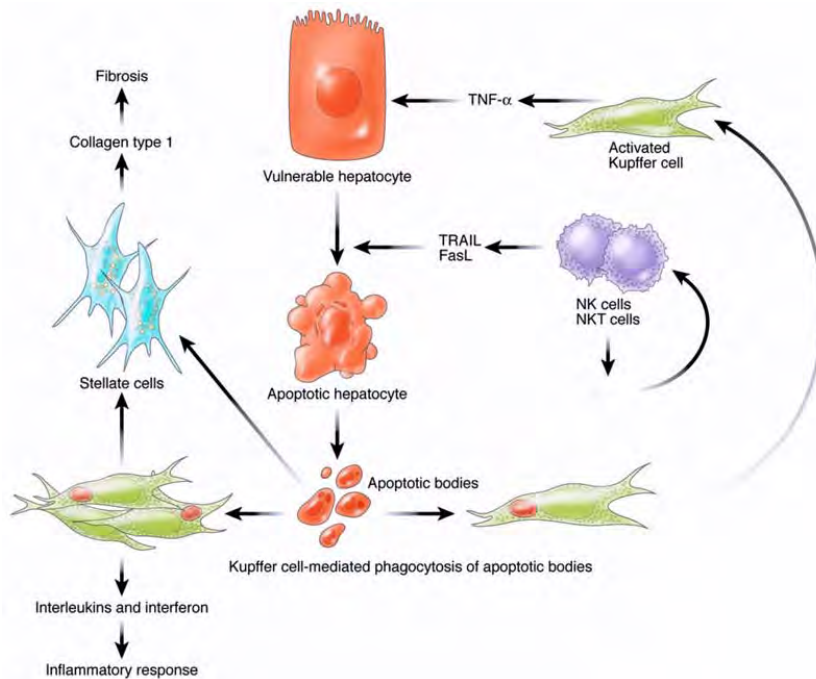
### **Hepatisk fibros: Kännetecknen av kronisk leverskada och leversvikt**

Hepatisk fibrogenes är ett kännetecken på allvarliga leverskador och en slutlig fasövergång mot cirros, HCC och leversvikt. Alla typer av bestående leverinflammationer leder till hepatisk fibros. Eftersom virala infektioner orsakar leverinflammationer i de flesta fall, så är virala infektioner en ledande orsak till starten av hepatisk fibrogenes (Malhi & Gores 2008). Omvandlingen av inflammerad levervävnad till fibrotisk lever är en komplicerad process som huvudsakligen involverar lipocyter i samarbete med inflammatoriska cytokiner, proteaser och dess inhibitorer. I det icke-aktiverade tillståndet fungerar lipocyter som vitamin A och lipider lager. Aktiverade lipocyter omvandlas till myofibroblaster (fiberproducerande celler) som producerar kollagen typ I och glattmuskulatur proteinet  $\alpha$ -aktin (Iredale *et al.* 1998)

En frisk levercells basalmembran och extracellulär matrix (EM) består av den så kallade låg densitets och icke-fibrösa typ av kollagen, fibronektiner, lamininer och glykoproteiner. Vid leverskador observeras en ökning av EM-material men också en ökning av kollagen typ I och III. Förklaringen till ökningen av EM-material är i första hand en obalans mellan enzymer som degraderar EM-material och dess inhibitorer. Men till störst del orsakas hepatisk fibros av deposition av kollagen typ I (Sherlok & Dooly 2002). Bestående hepatocyt apoptos eller nekros aktiverar indirekt lipocyternas kollagen typ I produktion. Detta på grund av Kupfferceller och levermakrofager fagocyterar infekterade celler samtidigt som Kupffercellerna släpper ut inflammatoriska cytokiner och indikerar leverinflammation, vilket leder till aktiveringen av lipocyter (se figur 10). Aktiverade lipocyter präglas av ökad



produktion av kollagen typ I och III och glatt och skelettmuskulatur proteinet  $\alpha$ -aktin vilket främjar fiberbildande, men vid leverinflammationer leder samma aktiveringsprocess till att leverfibros bildas. Aktiverade lipocyter uttrycker också ökad mängd av celldödreceptorn TRAIL och genomgår slutligen TRAIL-inducerad apoptos (Taimr *et al.* 2003).



Figur 7: Skadade hepatocyter uppvisar apoptotisk eller nekrotiskt morfologi som ger upphov till apoptotiska eller nekrotiska kroppar. Apoptotiska kroppar fagocyteras av kupfferceller, men de kan också aktivera lipocyterna till att fagocytera. Lipocyter kan också aktiveras av inflammatoriska cytokiner såsom interleukiner och TNF- $\alpha$ . Aktiverade lipocyter omvandlas till myofibroblaster och producerar kollagen typ I som orsakar leverfibros. Baserad på Malhi och Gores (2008).

## Diskussion

Infektioner av hepatiska virus är ett globalt hälsoproblem som bör uppmärksammas (Ashfaq *et al.* 2001). Undersökningar som utförs av Global Alert and Respons (GAR) enheten visar att miljontals människor dör och lider av viral hepatit. Detta leder till stora socioekonomiska problem framförallt i utvecklingsländer. De stora epidemiska utbrotten gäller framför allt HAV och HEV. Populationer som drabbas är från de allra fattigaste delarna av världen medan vaccination visar positiva resultat i till exempel USA och övriga västvärlden, framför allt med avseende på HAV:s och HBV:s spridning (Daniels *et al.* 2007). Kunskapen om hepatiska virus såsom demografisk utbredning, replikationsmekanismer, isolerade stammar, genom och molekylär virologi är en viktig redskap för att kunna bekämpa leverinflammationer (Mahli & Gores 2008). Exempelvis demografisk utbredning av HAV och HEV och dess omfattande utbrott kan avhjälpas med förbättrat saneringsprogram i de allra fattigaste länderna men också i vissa delar västvärlden. Kunskaper har också hjälpt till med att utveckla nya undersökningsmetoder av till exempel avloppsvatten, där viruspartiklar hamnar i vatten på grund av bristande reningssystem. En undersökning som utfördes på detta sätt visade förekomsten av HAV i 45,8% av prov tagna i avloppsvatten i Grekland (Kokkinos *et al.* 2011).

När det gäller HBV och HCV har kunskaper om infektionsmekanismer, ytantigener, interaktion med hepatocyter, och involverade receptorer lett till framtagningen av nya terapeutiska behandlingar, som har visat vara effektiva hos större delen av de infekterade

individerna. Det har också gett insikt om mekanismerna som ligger bakom HBV och HDV sam-infektioner, och HDV:s effekt på HBV-replikation, och den minskade förökningen av HBV virus i närvaro av HDV. Detta är en viktig insikt i och med det finns vaccination för prevention av HBV vilket indirekt minskar HDV infektioner (Lu *et al.* 2003).

Att ha djupare insikt om de molekylära mekanismerna bakom leverinflammation är också viktigt. Celldödreceptorer spelar avgörande roll vid både programmerad celldöd, till dysfunktionella eller infekterade celler eller riktad celldöd vid t.ex. tumörbildningar. Det som är överraskande är experiment som hittills har utförts har haft fokus på receptorernas roller vid riktad celldöd vid till exempel tumörbildningar. Plasmamembran celldöd-receptorerna och deras ligander har visat ha stora inverkan även vid hepatocyt celldöd och andra virusinfektioner. Viktiga kunskaper om lysosomernas och mitokondriernas inblandning har också gett oss kännedom om hur man i framtiden kan tackla slutfasen av leverinflammationer (Liu *et al.* 2011).

## Tack

Jag vill tacka förläggaren Springer Science and Business Media för lån av bild i tidskriften *Hepatology International* Volym 5:644–653, HBV life cycle and novel drug targets, författat av Grimm D, Thimme R och Blum HE 2011. Jag vill även tacka Lage Cerenius för goda råd, Anna-Kristina Brunberg och Katariina Kiviniemi för vägledning och föreläsningar, Maria Östman, Sofia Rydahl och David Forsander för bra återkoppling samt min familj och mina vänner för all uppmuntran och stöd under arbetets gång.

## Referenser

- Acheson NH. 2007. *Fundamentals of molecular virology*. John Wiley & Sons Inc, USA.
- Adams JM, Cory S. 2007. The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy. *Oncogene* 26: 1324-37.
- Agnello V, Åbel G, Elfahal M, Knight GB, Zhang QX. 1999. Hepatitis C virus and other Flaviviridae viruses enter cells via low density lipoprotein receptor. *PNAS* 96: 12766-12771.
- Ashfaq UA, Javed T, Rehman S, Zafar Nawaz Z, Riazuddin S. 2011. An overview of HCV molecular biology, replication and immune responses. *Virology Journal* 8:161
- Balayan MS, Andjaparidze AG, Savinskaya SS, Ketiladze ES, Braginsky DM, Savinov AP, Poleschuk VF. 1983. Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route. *Intervirology* 20: 23–31.
- Bartosch B, Cosset FL. 2006. Cell entry of hepatitis C virus. *Virology* 348: 1-12.
- Daniels D, Grytdal S och Wasley A. 2009. Surveillance for Acute Viral Hepatitis United States, 2007. *Morbidity and mortality weekly. Surveillance summaries* 58: 1-27.
- Dubisson J, Penin F, Moradpour D. 2002. Interaction of hepatitis C virus proteins with host cell membranes and lipids. *Trends Cell Biology* 12:517-23.
- Grimm D, Thimme R, Blum HE. 2011. HBV life cycle and novel drug targets. *Hepatology International* 5: 644-653.

- Guicciardi ME, Deussing J, Miyoshi H, Bronk SF, Svingen PA, Peters C, Kaufmann SH, Gores GJ. 2000. Cathepsin B contributes to TNF-alpha-mediated hepatocyte apoptosis by promoting mitochondrial release of cytochrome c. *Journal of clinical investigation* 106: 1122-1137.
- Heidrich B, Serrano BC, Idilman R, Kabacam G, Bremer B, Raupach R, Önder FO, Deterding K, Zacher B, Taranta A, Bozkaya H, Zachou K, Tillman HL, Bozdyai AM, Manns MP, Yurdaydin C, Wedermeyer H. 2012. HBeAG-positive hepatitis delta: virological pattern and clinical long-term outcome. *Liver international*, doi 10.1111/j.1478-3231.2012.02831.x.
- Hollinger FB, Purcell RH, Gerin JL, Ganem DE, Feinstone SM, Emerson SU, Major ME, Schnieder RJ, Liang TJ, Casey JL, Rehermann B. 2002. *Viral Hepatitis*. 4: Hollinger FB, Liang TJ. *Hepatitis B*, ss 103 – 105. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Huang C, Chang SC, Yang HC, Chien CL, Chang MF. 2009. Clathrin-Mediated Post-Golgi Membrane Trafficking in the Morphogenesis of Hepatitis Delta Virus. *Journal of Virology* 83: 12314-12324.
- Iredale JP, Benyon RC, Pickering J, McCullen M, Northrop M, Pawley S, Hovell C, Arthur MJP. 1998. Mechanisms of Spontaneous Resolution of Rat Liver Fibrosis. *The Journal of Clinical investigations* 102: 538–549.
- Jiang X, Shimaoka T, Kojo S, Harada M, Watarai H, Wakao H, Ohkohchi N, Yonehara S, Taniguchi M, Seino KI. 2005. Cutting Edge: Critical Role of CXCL16/CXCR6 in NKT Cell Trafficking in Allograft Tolerance. *The Journal of immunology* 175: 2051- 2055.
- Kokkinos PA, Ziros PG, Mpalasopoulou A, Galanis A, Vantarakis A. 2011. Molecular detection of multiple viral targets in untreated urban sewage from Greece. *Virology Journal*, doi: 10.1186/1743-422X-8-195.
- Krawczynski K, Meng JX, Rybczynska J. 2011. Pathogenic elements of hepatitis E and animal models of HEV infection. *Virus research* 161: 78-83.
- Kuntz E, Kuntz HD 2006. *Hepatology principles and practice*. 2:a uppl. Springer Medizin Verlag Heidelberg, Germany.
- Kuntz E, Kuntz HD 2008. *Hepatology textbook and atlas*. 3:e Uppl. Springer Medizin Verlag Heidelberg, Germany.
- Lapinski TW, Kowalczyk O, Prokopowicz D, Chyczewski L. 2004. Serum concentration of sFas and sFasL in healthy HBsAg carriers, chronic viral hepatitis B and C patients. *World journal of gastroenterology* 15: 3650-3653.
- Lindenbach BD, Evans MJ, Syder AJ, Wölk B, Tellinghuisen TL, Liu CC, Maruyama T, Hynes RO, Burton DR, McKeating JA, Rice CM. 2005. Complete replication of hepatitis C virus in cell culture. *science* 309: 623-626.
- Liu L, Zhang Z, Xing D. 2011. Cell death via mitochondrial apoptotic pathway due to activation of Bax by lysosomal photodamage. *Free Radical Biology and Medicine* 51: 53-68.
- Lu SN, Chen TM, Lee CM, Wang JH, Tung HD, Wu JC. 2003. Molecular epidemiological and clinical aspects of hepatitis D virus in a unique triple hepatitis viruses (B, C, D) endemic community in Taiwan. *Journal of medical epidemiology* 70: 74-80.
- Malhi H, Gores GJ, Lemasters JJ. 2006. Apoptosis and necrosis in the liver: a tale of two deaths? *Hepatology* 43: 31-44.
- Malhi H, Gores GJ. 2008. Cellular and molecular mechanisms of liver injury. *Gastroenterology* 134: 1641-1654.

- Meng XJ, Purcell RH, Halbur PG, Lehman JR, Webb DM, Tsareva TS, Haynes JS, Thacker BJ, Emerson SU. 2008. A novel virus in swine is closely related to the human. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 94: 9860-9865.
- Micheau O, Tschopp J. 2003. Induction of TNF receptor I-mediated apoptosis via two sequential signaling complexes. *Cell* 114: 181-190.
- monkey embryonic stem cells promoted by collagen gels and growth factors. *Cell biology* 35: 775-781.
- Op De Beeck A, Cocquerel L, Dubuisson J. 2001. Biogenesis of hepatitis C virus envelope glycoproteins. *Journal of General Virology* 82: 2589–2595.
- Popescu CI, Callens N, Trinel D, Roingard P, Moradpour D, Descamps V, Duverlie G, Penin F, Heliot L, Rouille Y, Dubuisson J. 2011. NS2 Protein of Hepatitis C Virus interacts with structural and non-Structural proteins towards virus assembly. *PloS Pathogens*, doi 10.1371/journal.ppat.1001278.
- Saitou Y, Shiraki K, Fuke H, Inoue T, Miyashita K, Yamanaka Y, Yamaguchi Y, Yamamoto N, Ito K, Sugimoto K, Nakano T. 2005. Involvement of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand receptors in viral hepatic diseases. *Human pathology* 36: 1066-1073.
- Sanyal AJ, Yoon SK, Lencioni R. 2010. The Etiology of Hepatocellular Carcinoma and Consequences for Treatment. *The Oncologist* 15: 14-22.
- Schultheiss T, Kusov YY, Gauss-Muller V. 1994. Proteinase 3C of hepatitis A virus (HAV) cleaves the HAV polyprotein P2-P3 at all sites including VP1/2A and 2A/2B. *Virology* 198: 275-281.
- Sherlock S, Dooley J. 2002. Diseases of the liver and biliary system. 11:e Uppl. Blackwell Science, Oxford.
- Stephen C. Harrison SU. 2008. The pH sensor for flavivirus membrane fusion. *The Journal of cell biology* 183: 177-179.
- Szabo G, Mandrekar P, Dolganiuc A. 2007. Innate Immune Response and Hepatic Inflammation. *Seminars liver diseases* 27:339-50.
- Taimr P, Higuchi H, Kocova E, Rippe RA, Friedman S, Gregory J. Gores. 2003. Activated stellate cells express the TRAIL receptor-2/death Receptor-5 and undergo TRAIL-mediated apoptosis. *Hepatology* 37: 87-97.
- Taniguchi M, Seino KI. 2005. Cutting Edge: Critical role of CXCL16/CXCR6 in NKT cell trafficking in allograft tolerance. *The Journal of immunology* 175: 2051- 2055.
- Thorgeirsson SS, Lee JS, Grisham. 2006. Molecular prognostication of liver cancer: End of the beginning. *Journal of hepatology* 44: 798-805.
- Ueki T, Kaneda Y, Tsutsui H, Nakanishi K, Sawa Y, Morishita R, Matsumoto K, Nakamura T, Takahashi H, Okamoto E, Fujimoto J. 1999. Hepatocyte growth factor gene therapy of liver cirrhosis in rats. *Nature medicine* 5: 226-230.
- Vennok AP, Papandreou C, Furuse J, De Guevara LL. 2010. The incidence and epidemiology of hepatocellular carcinoma: A global and regional perspective. *The oncologist* 15: 5-13.
- Wang X, Jin L, Ji S, Guo X, Chen H, Ji W. 2011. Hepatocytic differentiation of rhesus monkey embryonic stem cells promoted by collagen gels and growth factors. *Cell Biology* 35: 775-781.
- Werneburg NW, Bronk SF, Guicciardi ME, Thomas L, Dikeakos JD, Thomas G, Gores GJ. 2012. Tumor Necrosis Factor-related Apoptosis-inducing Ligand (TRAIL) Protein-induced lysosomal translocation of proapoptotic effectors is mediated by

- Phosphofurin Acidic Cluster Sorting Protein-2 (PACS-2). *Journal of clinical investigation* 113: 58-64.
- WHO 2000\_7. Hepatitis A. WWW – dokument:  
[http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/HepatitisA\\_whocdscsredc2000\\_7.pdf](http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/HepatitisA_whocdscsredc2000_7.pdf).  
Hämtad 2011-04 -12.
- WHO 2001\_1. Hepatitis Delta. WWW-dokument:  
[http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/HepatitisD\\_whocdscsredc2001\\_1.pdf](http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/HepatitisD_whocdscsredc2001_1.pdf).  
Hämtad 2011-04-12.
- WHO 2001\_12. Hepatitis E. WWW – dokument:  
[http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/HepatitisE\\_whocdscsredc2001\\_12.pdf](http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/HepatitisE_whocdscsredc2001_12.pdf).  
Hämtad 2011-04-12.
- WHO 2003. Hepatitis C. WWWdokument: [www.who.int/csr/disease/hepatitis/Hepc.pdf](http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/Hepc.pdf).  
Hämtad 2011-04-12.
- Zheng SJ, Pu Wang P, Galit Tsabary G, Chen YH. 2004. Critical roles of TRAIL in hepatic cell death and hepatic inflammation. *The Journal of Clinical Investigation* 113: 58-64.