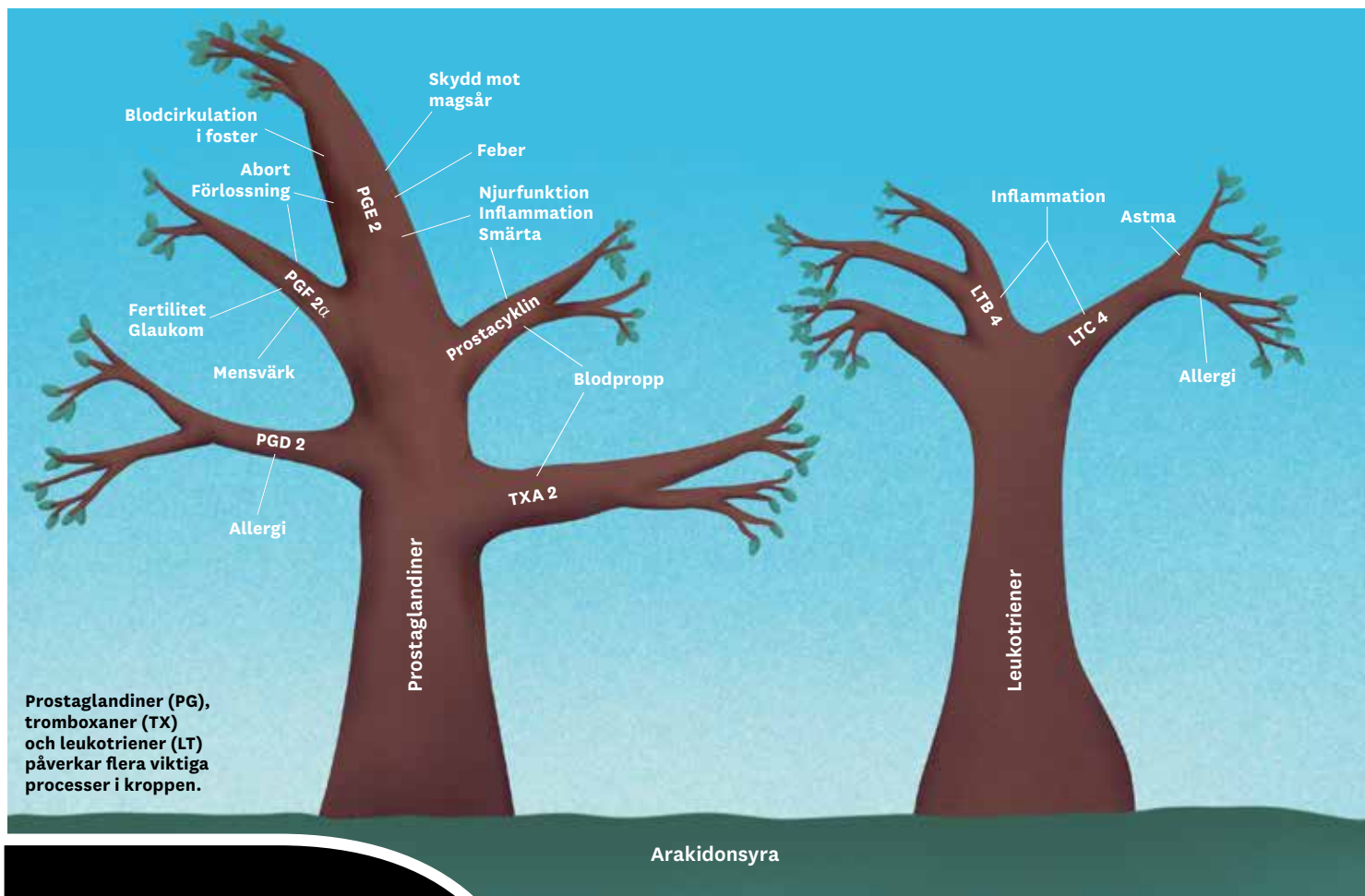


Upptäckten som gav ett svenskt Nobelpris

Upptäckten av prostaglandiner och liknande substanser har lett till att forskare har kunnat utveckla nya behandlingar av ett antal olika sjukdomar. Bakom den Nobelprisbelönade upptäckten finns flera svenska forskare.

Text Hans-Erik Claesson Illustration Johan Nord



P

ROSTAGLANDINER, tromboxaner och leukotriener är speciella fettsyror som fungerar på ett sätt som liknar hormoner i människokroppen. De påverkar viktiga biologiska processer och kan både hjälpa kroppen att läka och bidra till att vi blir sjuka. De spelar en viktig roll vid uppkomsten

av smärta, inflammation, feber, blodproppar och astma.

En viktig upptäckt har därför varit utvecklingen av läkemedel som kan minska bildningen eller effekterna av dessa ämnen. Läkemedel som kallas för NSAID (icke-steroida antiinflammatoriska läkemedel), exempelvis ibuprofen, diklofenak och aspirin, hämmar produktionen av prostaglandiner och används för att behandla inflammation och feber. Hundratal ton av dessa läkemedel används årligen i Sverige vid behandling av olika inflammatoriska tillstånd och feber. Aspirin har också en annan viktig funktion – det kan blockera bildningen av tromboxaner, vilket minskar risken för blodproppar. Därför används låga doser aspirin ofta för att förebygga stroke och hjärtinfarkt. För behandling av astma används läkemedel som blockerar effekten av leukotriener.

Samtidigt används prostaglandiner inom sjukvården för att sätta igång värbet vid förlossningar, vid medicinsk abort och vid behandling av sjukdomar som

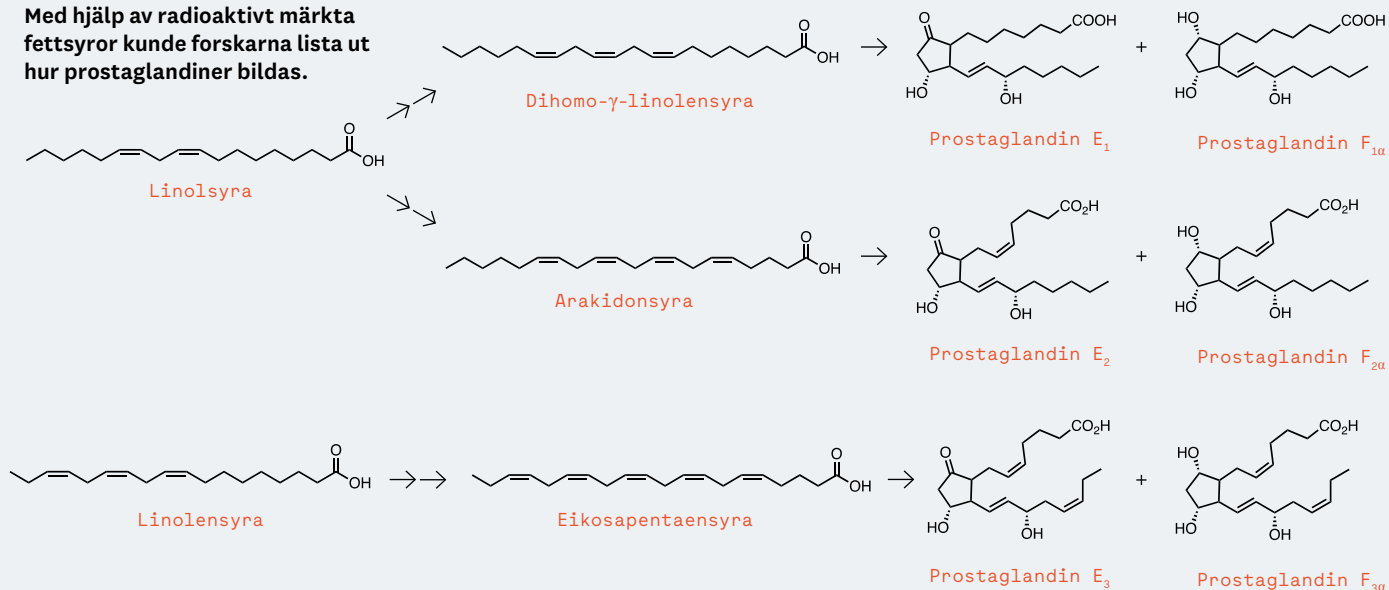
glaukom, och vissa hjärt-kärlsjukdomar. Nyligen har man visat att de även kan lindra förfrysningsskador.

Historien om prostaglandiner, tromboxaner och leukotriener är ett lysande exempel på hur grundforskning har lett fram till utveckling av läkemedel som i dag används vid behandling av många olika sjukdomar. Forskarna bakom upptäckten – Sune Bergström, John Vane och Bengt Samuelson – tilldelades Nobelpriset i medicin eller fysiologi 1982.

FORSKNINGEN OM prostaglandiner började redan på 1930-talet. Två amerikanska gynekologer upptäckte att när sädesvätska användes vid artificiell insemination kunde den både få livmodern att slappna av och att kraftigt dra sig samman. Även den svenska forskaren Ulf von Euler (1905–83) använde sädesvätska i sina studier. Han undersökte det han kallade substans P – som fanns i olika vävnader – och märkte att sädesvätska från människor och djur också kunde sänka blodtrycket och påverka glatt muskulatur, vilket är den typ av muskel som bland annat finns i blodkärl och tarmar. Ulf von Euler kom fram till att den

Fettsyror är byggstenarna

Med hjälp av radioaktivt märkta fettsyror kunde forskarna lista ut hur prostaglandiner bildas.



aktiva substansen i sädesvätskan inte var densamma som substans P. Han upptäckte att den aktiva substansen var fettlöslig och gav den namnet prostaglandin.

Vid ett möte på Karolinska institutet 1945 träffade Ulf von Euler forskaren Sune Bergström (1916–2004). Han frågade Sune Bergström om han ville undersöka ett lipidextrakt som extraherats ur sädesblåsor från får och som innehöll den aktiva substansen. Sune Bergström tog sig an uppgiften och fortsatte arbetet med att identifiera den.

En viktig hjälp i reningen av okända faktorn var att lipidextraktet kunde få kanintarmar att dra ihop sig. Det betydde att forskarna kunde följa reningen av

okända faktorn genom att testa olika delar av extraktet på kanintarmar. Forskarna lyckades rena extraktet mer än 500 gånger och kunde visa att prostaglandin var en omättad hydroxysyra.

Under 1950-talet förbättrades villkoren för arbetet. Den svenska staten ökade anslagen till den biomedicinska forskningen. Sune Bergströms forskning fick under flera år även stöd från amerikanska National institute of health, NIH, och kunde rekrytera flera nya forskningsintresserade studenter till sin grupp. En av dessa var Bengt Samuelsson (1934–2024). I slutet av 1950-talet flyttade gruppen från Lunds universitet till Institutionen för medicinsk kemi vid Karolinska institutet, KI.

SAMTIDIGT GJORDES VIKTIGA tekniska genombrott. I slutet av 1950-talet byggde KI-forskaren Ragnar Ryhage (1919–94) ett avancerat instrument – en gaskromatograf-masspektrometer. Det var världens första fungerande instrument som kombinerade de två teknikerna och det kom att spela en avgörande roll i forskningen. Med hjälp av det kunde Sune Bergströms forskargrupp bestämma strukturen på två typer av prostaglandiner: prostaglandin PGE₁ och PGF_{1 α} . Ett par år senare hade de identifierat strukturen för ytterligare fyra prostaglandiner ur lipidextrakt (se figur ovan).

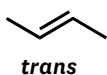
Forskare hade redan på 1960-talet förstått att prostaglandiner inte bara bildas i mannens reproduktionsorgan, utan också i många andra delar av kroppen. Däremot visste de fortfarande inte exakt hur eller var dessa ämnen bildades. Eftersom prostaglandiner innehåller en speciell typ av kemisk bindning, en cis-dubbelbindning, misstänkte forskarna att de kunde bildas från de essentiella fettsyror linolsyra (en omega-6-fettsyra) och linolensyra (en omega-3-fettsyra), som båda innehåller sådana bindningar.

Vid den här tiden hade kemisten David van Dorp (1915–95), som arbetade på livsmedelstillverkaren Unilevers forskningslab i Nederländerna, lyckats skapa radioaktivt märkta versioner av essentiella fettsyror.

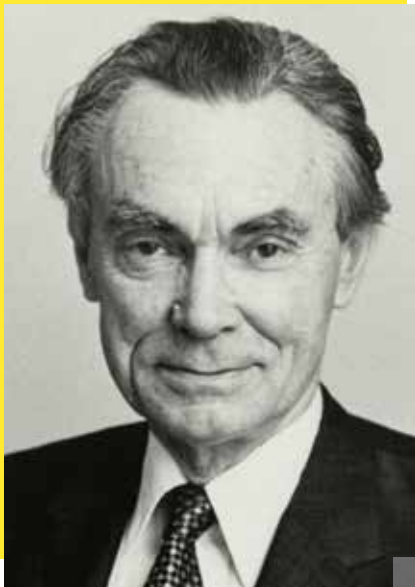
När jag personligen träffade David van Dorp i början av 1980-talet berättade han att han blivit kontaktad av Sune Bergström i början av 1960-talet. Deras samtal visade att de båda hade liknande planer – att undersöka om dessa fettsyror var förstadier till prostaglandiner. David van Dorp skickade de radioaktivt märkta fettsyror till Sune Bergström, som med experiment kunde visa att det bildas radioaktiva prostaglandiner när celler behandlas med dessa radioaktivt märkta fettsyror. Därmed bekräftade de att de essentiella fett-



Cis-transisomeri



Cis-dubbelbindningar i prostaglandiner fick forskarna att misstänka att de bildas av fettsyror som har dessa bindningar. Exemplet visar trans- och cis-isomererna av 2-buten.



Professorerna Sune Bergström, Bengt Samuelsson, och John Vane tilldelades Nobelpriset i medicin eller fysiologi 1982.



syrorna var "byggstenar" för prostaglandiner. Resultaten publicerades av Bergström och van Dorp 1964.

NÄSTA FRÅGA SOM forskarna ville besvara var hur prostaglandiner bildas från fettsyror. I mitten av 1960-talet visste de att arakidonsyra är den viktigaste "moderssubstansen" för prostaglandiner i kroppen.

Bengt Samuelsson, som nu hunnit bygga upp en egen forskargrupp vid KI, gjorde experiment där han behandlade lungvävnad från marsvin med arakidonsyra. Experimenten visade att det då bildades två specifika prostaglandiner: PGE_2 och $\text{PGF}_{2\alpha}$. De visade också att dessa två prostaglandiner inte kunde omvandlas till varandra, vilket fick Bengt Samuelsson att tro att de hade en gemensam "mellanprodukt" i sin syntes.

Det var 1973 som jag själv började som forskarstuderande i Samuelssons grupp. Samuelsson och Mats Hamberg (född 1943), som också ingick i forskargruppen, gjorde under de kommande åren flera viktiga upptäckter. De lyckades isolera denna mellanprodukt, prostaglandin H_2 – som är en endoperoxid – och kartlägga den exakta mekanismen bakom prostaglandinernas bildning (se figur sidan 21).

Prostaglandin-endoperoxiden PGH_2 visade sig vara biologiskt aktiv och kunde bland annat dra ihop glatt muskulatur och

få trombocyter (blodplättar) att klumpa ihop sig i provrör. Detta liknar det första steget i bildningen av blodproppar i kroppen.

Flera forskargrupper studerade på den tiden även ett ämne som kallades RCS (rabbit aorta contracting substance), som kunde dra ihop aorta och som frisattes när trombocyter klumpade ihop sig. En av dessa grupper fanns vid University of London och leddes av farmakologen John Vane (1927–2004).

JOHN VANES GRUPP hade tidigare gjort en annan mycket viktig upptäckt – att verkningsmekanismen för aspirin och andra NSAID är att de hämmar bildningen

av prostaglandiner. De upptäckte även att bildningen av RCS hämmades av aspirin, vilket ledde forskarna att undersöka om det kunde vara samma ämne som den nyligen identifierade endoperoxiden PGH_2 , eller en annan förening bildad från endoperoxiden.

Vid KI kunde Bengt Samuelsson och Mats Hamberg, efter noggranna analyser, visa att RCS var en instabil förening som bildades från PGH_2 . De strukturbestämde först en stabil variant av föreningen och kallade det tromboxan B_2 . Senare identifierades det instabila förstadiet, som kallas tromboxan A_2 (se figur på nästa sida), som visade sig vara den förening som får trombocyter att klumpa ihop sig och bilda blodproppar.

John Vane var intresserad av att utveckla läkemedel som kunde hämma bildningen av tromboxan A_2 och därigenom förhindra blodproppsbildning. När han testade endoperoxiden PGH_2 i sina biologiska modeller upptäckte han något oväntat: i stället för att öka blodproppsbildning vidgade endoperoxiden blodkärlen och hindrade trombocyter från att klumpa ihop sig. Detta ledde till upptäckten av en ny förening, som fick namnet prostacyclin (PGI_2) (se figur på nästa sida). Prostacyclin bildas från PGH_2 i blodkärlens väggar och fungerar som en naturlig motvikt till tromboxan A_2 , som bildas i trombocyterna. Vid en kärlskada samspelar dessa två ämnen för att balansera blodproppsbildningen – tromboxan A_2 stimulerar blodproppsbildning, medan prostacyclin motverkar den.

MAN HAR LÄNGE vetat att aspirin (acetylsalicylsyra) kan förlänga blödningstiden. Under 1980-talet studerade forskare hur aspirin kunde användas för att förebygga blodproppar, men de visste inte vilken dos som var mest effektiv. En avgörande upptäckt var att låga doser av aspirin helt kunde stoppa bildningen av tromboxan A_2 i trombocyterna under hela deras livstid (7–10 dagar), medan bildningen av prostacyclin i blodkärlens väggar bara påverkades i några timmar.

Anledningen till denna skillnad är att aspirin permanent inaktiverar enzymet cyklooxygenas, *cox* (se faktaruta på sidan 22), som krävs för att bildas tromboxan A_2 . Trombocyter saknar cellkärna och kan inte producera nytt enzym, vilket gör att de inte kan bilda mer tromboxan A_2 . Cellerna i blodkärlens väggar har däremot cellkärnor och kan snabbt producera enzymet och därmed fortsätta att bilda prostacyclin.

I dag behandlas miljontals människor med låga doser aspirin för att minska risken för stroke och hjärtinfarkt. Aspirins förmåga att selektivt hämma tromboxan A_2 utan att helt stoppa bildningen av prosta-

cyklin är en viktig faktor bakom dess effektiva förebyggande av blodproppar.

I SLUTET AV 1970-TALET upptäckte forskare en ny grupp av ämnen som liknade prostaglandiner och tromboxaner. De kallade dem leukotriener. Den kanadensiske forskaren Pierre Borgeat (1947–2013) hade då kommit till Bengt Samuelssons forskargrupp för att studera hur arakidonsyra omvandlas i vita blodkroppar. Vi arbetade i samma laboratorium, och jag följde hans forskning nära.

Han upptäckte att arakidonsyra med hjälp av ett enzym som heter 5-lipoxygenas omvandlas till en förening som kallades leukotrien B₄, via en instabil mellanprodukt som fick namnet leukotrien A₄. Föreningarna fick namnet leukotriener eftersom de bildades i leukocyter (vita blodkroppar).

Leukotrien B₄ visade sig vara ett biolo-



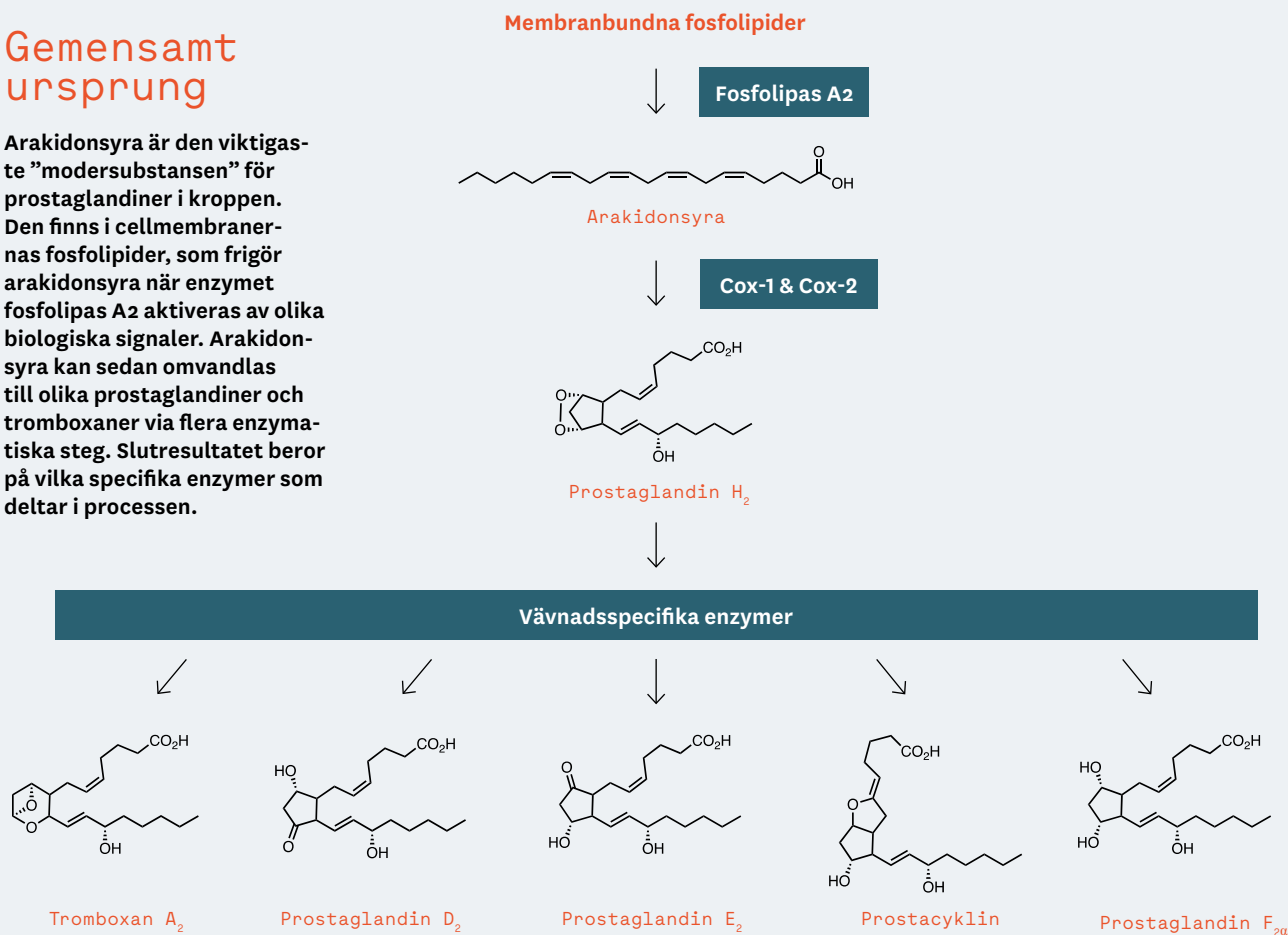
Läkemedel som minskar effekten av prostaglandiner

Icke-steroida antiinflammatoriska läkemedel, NSAID – som till exempel ibuprofen, diklofenak och aspirin hämmar enzymerna cox-1 och cox-2 och hindrar därmed prostaglandiner och tromboxaner att bildas. De används mot bland annat inflammation och feber men kan också vara skadliga för patienter som inte tål dem.



Gemensamt ursprung

Arakidonsyra är den viktigaste ”modersubstansen” för prostaglandiner i kroppen. Den finns i cellmembranernas fosfolipider, som frigör arakidonsyra när enzymet fosfolipas A2 aktiveras av olika biologiska signaler. Arakidonsyra kan sedan omvandlas till olika prostaglandiner och tromboxaner via flera enzymatiska steg. Slutresultatet beror på vilka specifika enzymer som deltar i processen.



giskt mycket aktivt ämne som stimulerar vandring av vita blodkroppar till områden i kroppen där inflammation pågår. Detta gör att vita blodkroppar ansamlas och bidrar till att bekämpa infektioner eller skador. Processen kan dock också leda till problem om den blir överdriven och förvärra inflammatoriska sjukdomar.

REDAN 1938 HADE forskare försökt identifiera en förening som kallades *slow reacting substance of anaphylaxis* (SRS-A). Denna substans bildas vid allergiska reaktioner och ansågs vara en viktig orsak till astma och den allvarliga allergiska reaktionen anafylaxi. Under 1970-talet fanns teorier om att SRS-A kunde härstamma från arakidonsyra, men dess exakta struktur var fortfarande okänd. Pierre Borgeat upptäckte att bildningen av leukotrien B_4 ökade när celler stimulerades med kalcium. Han noterade också att leukotrien B_4 vid försök uppvisade ett specifikt UV-absorbansmönster som liknade det som tidigare hade beskrivits för SRS-A. Vidare forskning i Samuelssons grupp visade att den kemiska strukturen av SRS-A liknade leukotrien B_4 men den identifierade föreningen innehöll tripeptiden glutation (består av tre aminosyror) som ger föreningen andra kemiska och biologiska egenskaper än leukotrien B_4 . Den nya identifierade föreningen döptes till leukotrien C_4 .

Leukotrien C_4 , och dess metaboliter leukotrien D_4 och leukotrien E_4 , orsakar sammandragning av luftrören och inflammation i luftvägarna. Dessa leukotriener spelar en viktig roll för att förvärra astmasymtom som andnöd och hosta. I dag finns läkemedel som blockerar effekten av dessa leukotriener och som används för att behandla astma.

UPPTÄCKTERNA AV prostaglandiner, tromboxaner och leukotriener och hur de fungerar på molekylär nivå har fått stor klinisk betydelse. Forskningen har lett till nya sätt att behandla flera vanliga sjukdomstillstånd.

Sune Bergström, John Vane och Bengt Samuelson tilldelades Nobelpriset i medicin eller fysiologi 1982 för upptäckten av prostaglandiner och besläktade biologiskt aktiva substanser. ◊

Hans-Erik Claesson är legitimerad läkare och professor i medicinsk och fysiologisk kemi vid Karolinska institutet. Han började som doktorand vid Institutionen för medicinsk kemi vid Karolinska institutet 1973 och disputerade på en avhandling om prostaglandiner 1979.



Enzymerna cox-1 och cox-2

Enzymet prostaglandin-endo-peroxid-syntas katalyserar omvandlingen av arakidonsyra till PGH_2 . I dag kallas enzymet ofta bara för cyklooxygenas, eller cox.

I början av 1990-talet upptäckte forskare att det finns två olika former av enzymet cox, som spelar en central roll i bildningen av prostaglandiner. Den nya formen döptes till cox-2. Före det trodde man att bara en typ av cox, nu kallad cox-1, existerade och att det var mängden av detta enzym som ökade vid inflammation. Upptäckten av cox-2 gjordes oväntat av cancerforskare som studerade vilka gener som aktiveras när celler växer. De hittade ett mRNA som liknade det som kodar för bildningen av det kända cox, men som kodade för ett enzym som var annorlunda nog för att betraktas som ett nytt enzym.

Det visade sig att det framför allt är cox-2 som ökar vid inflammatoriska tillstånd, medan cox-1 finns i kroppen under normala förhållanden och har viktiga skyddande funktioner, särskilt i mag-tarmkanalen. Cox-1 hjälper till att producera prostaglandiner som skyddar magsäckens slemhinna från

skador. Därför kan läkemedel som hämmar båda enzymerna, som traditionella NSAID (till exempel ibuprofen), orsaka magbesvär som blödningar, smärta och i värsta fall magsår. Forskning har också visat att NSAID kan minska risken för tjocktarmscancer.

När man insåg att cox-2 är huvudansvarigt för inflammation, började läkemedelsindustrin utveckla läkemedel som specifikt blockerar cox-2 utan att påverka cox-1. Målet var att minska biverkningarna av NSAID, särskilt skador på magslemhinnan. I dag finns läkemedel som hämmar enbart cox-2 och som används främst för patienter som inte tål vanliga NSAID på grund av biverkningar.

Under 1990-talet var Per-Johan Jakobsson doktorand i Hans-Erik Claessons forskargrupp. Efter sin disputation fortsatte han sin forskning i Bengt Samuelssons grupp, där han upptäckte mikrosomalt PGE-syntas-1 (mPGES-1) – ett enzym som specifikt katalyserar omvandlingen av PGH_2 till PGE_2 . Nu undersöker forskare om det kan vara mer fördelaktigt att blockera mPGES-1 i stället för cox-1 och cox-2, eftersom det möjligen är effektivare eller kan ge färre biverkningar vid behandling av vissa inflammatoriska sjukdomar. Kliniska studier pågår för att utvärdera denna möjlighet.