

Prostaglandiner, Tromboxaner och Leukotriener.

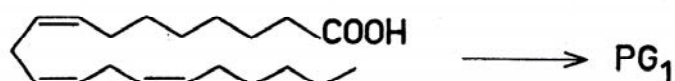
Kompendium för Endokrinavsnittet, Organsystemens Fysiologi.

A. Prostaglandiner (PG) och Tromboxaner (TX).

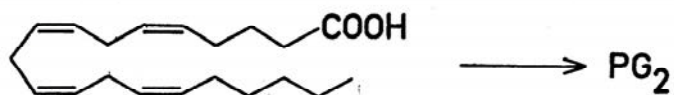
1. Biosyntes och strukturer.

Prostaglandiner bildas från fleromättade essentiella fettsyror. Vanligast förekommande är prostaglandiner av 2-serien (PG₂) vilka har två dubbelbindningar i strukturerna.

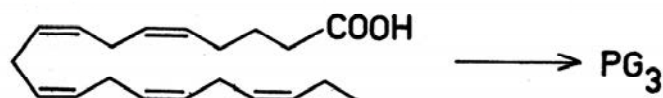
Dessa bildas från arachidonsyra. Dessutom kan 8,11,14-eicosatriensyra metaboliseras till PG av 1-serien, samt 5,8,11,14,17-eicosapentaensyra kan ge PG av 3-serien, se figur:



8,11,14-eicosatriensyra
(=dihomo- γ -linolensyra)



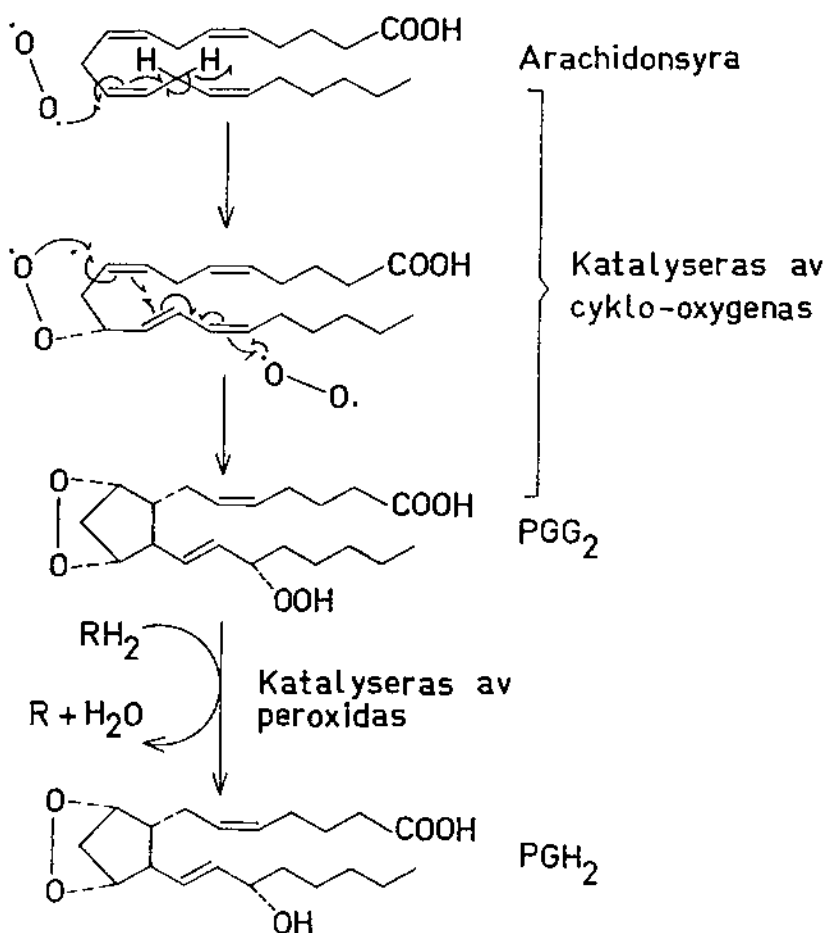
5,8,11,14-eicosatetraensyra
(=arachidonsyra)



5,8,11,14,17-eicosapentaensyra

Här följer en genomgång av 2-seriens biosyntes. Observera att biosyntes av 1- respektive 3-serierna är analoga, de startar bara med andra substrat. I PG₂-biosyntesens första steg omvandlas arachidonsyra till en så kallad endoperoxid, benämnd prostaglandin G (PGG₂). Två syrgasmolekyler har introducerats, den första har bildat den cykliska endoperoxiden (C-O-O-C), den andra en hydroperoxidgrupp (-O-O-H). Samtidigt har en ringstruktur (fem kol) bildats, och av arachidonsyrans fyra

dubbelbindningar återstår bara den vid kol 5, ytterligare en har bildats vid kol 13.
Observera att hela reaktionssekvensen börjar med en väteabstraktion på kol 13. se figur:

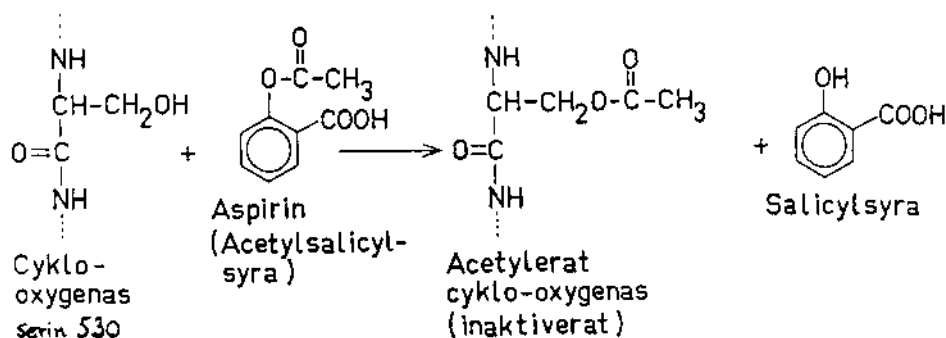


Biosyntesschemats andra steg är enklare, det består endast i reduktion av hydroperoxiden till en alkohol (-O-H). Även PGH_2 är en endoperoxid, då den cykliska peroxiden som brygger mellan kol 9 och 11 kvarstår.

Bägge dessa reaktionssteg katalyseras av ett enzym, PG-endoperoxid-syntas. Detta enzym besitter två olika aktiviteter, cyklooxygenas-aktiviteten som katalyserar steg 1 (arachidonsyra till PGG_2) samt peroxidasaktiviteten (PGG_2 till PGH_2). Förkortas ofta COX, efter cyklooxygenas-aktiviteten. PG-endoperoxidsyntasets (COX) egenskaper:

- Två isoenzymer har påvisats, vilka katalyserar samma reaktion. den ena formen (COX-1 eller cyclooxygenas-1) är vanligast, t ex i njure och magslemhinna. COX-2 (cyclooxygenas-2) finns bland annat i olika vita blodkroppar, och verkar vara av störst betydelse för produktion av PG i samband med inflammation.
- Mikrosomalt hemoprotein, lokaliserat till endoplasmatiska retiklet samt kärnmembranet.
- Väger 140.000 Dalton, sammansatt av två identiska subenheter, som binder varsin hem.

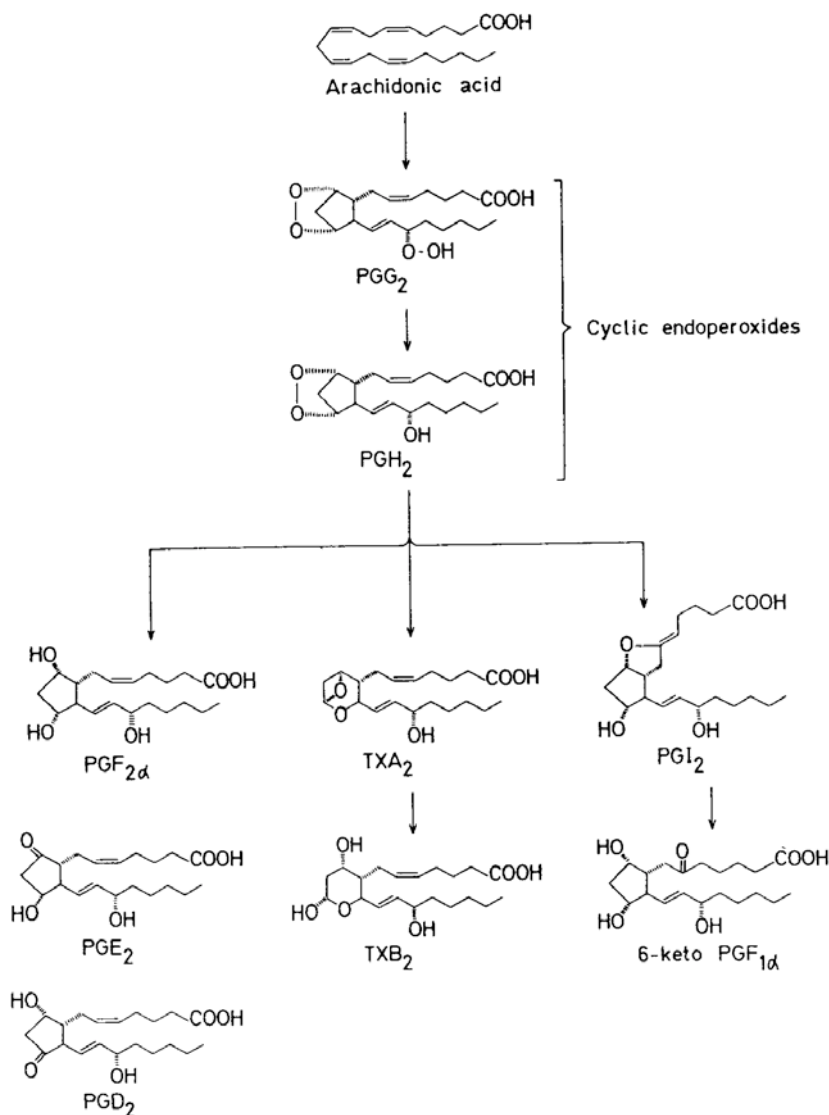
- COX-1 eller 2 finns i så gott som alla cellslag, utom röda blodkroppar. Alltså kan PGH_2 bildas i nästan alla cellslag.
- Vid katalysen självinaktiveras enzymet. Detta beror på att olika radikaler, som enzymet själv bildar, kan reagera med aktiva delar av enzymet och förstöra detsamma. Detta leder till en begränsning av den mängd endoperoxid en cell kan bilda. Då substrat blir tillgängligt får man en puls av enzymaktivitet (ca 1 min), följt av en refraktärperiod (min - timmar) då nytt enzym bildas.
- Cellers COX innehåll är ej alltid konstant. Induktion av COX-2 syntes har påvisats i fibroblaster, stimulerade med interleukin 1. Antiinflammatoriska steroider (t ex dexametason) hämmar syntes av COX-2.
- COX peroxidase aktivitet kräver en kofaktor som låter sig oxideras då PGG reduceras till PGH. Många olika substanser accepteras, aminosyran tryptofan brukar anges som exempel. Även xenobiotica som paracetamol (aktiva substansen i alvedon) kan komma ifråga, härvid kan giftiga metaboliter bildas (jfr cyt P-450 katalyserad oxidation av xenobiotica). Detta fenomen kallas koxygenering.
- Olika anti-inflammatoriska droger av icke-steroid typ (NonSteroidal AntiInflammatory Drugs, NSAID) hämmar COX cyklooxygenas-aktivitet. Som exempel kan anges acetylsalicylsyra (aspirin), indometacin, ibuprofen (Ipren), naproxen (Naprosyn), vilka alla hämmar både COX-1 och COX-2. Droger vilka är specifika för COX-2 har antiinflammatorisk effekt men retar ej magslemhinnan, jfr nedan. För aspirin är inaktiveringsmekanismen känd, ger N-acetylering av en serin vid enzymets aktiva yta:



Endoperoxiderna är instabila substanser (halveringstid ca 5 min avseende spontant sönderfall vid pH 7), vilka sålunda kan bildas i nästan alla cellslag. Den fortsatta metabolismen är beroende av den aktuella cellens uppsättning av olika enzymer, vilka kan omvandla PGH_2 till olika produkter med olika biologiska aktiviteter.

- PGE syntaser, finns flera. Det mikrosomala enzymet mPGE-syntas 1 verkar företrädesvis vara inblandat i syntes av PGE_2 vid inflammation. Är därmed ett "drug-target" för utveckling av nya anti-inflammatoriska droger. PGE är en stabil prostaglandin, halveringstid dagar - månader. Observera att detta avser den kemiska stabiliteten. I närvaro av metaboliserande enzymer bryts PGE ned snabbt.
- PGF syntas. Ett mikrosomalt enzym. Påvisat i uterus. Produkten $\text{PGF}_{2\alpha}$ är stabil i månader (i frånvaro av metaboliserande enzymer). PG av typerna E samt F var de som isolerades och strukturbestämde först, pga sin relativa stabilitet.

- PGD syntaser, finns flera. Ett cytosolärt enzym är påvisat i lunga, CNS (åtminstone hos råtta), mastceller. PGD är en stabil substans, nonenzymatisk $t_{1/2}$ timmar - dagar.
- PGI syntas. Ett mikrosomalt cyt P-450 isoenzym. Påvisat i kärl, hjärta, lunga, njure, mjälte och makrofager. Den biologiskt aktiva produkten PGI_2 bryts ned nonenzymatiskt till den stabila 6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$, som saknar biologisk aktivitet. Från PGH_1 kan ingen omvandling ske då Δ^5 -dubbelbindningen är nödvändig för PGI syntes.
- TXA syntas. Ett mikrosomalt cytP-450 isoenzym. Påvisat i trombocyter, lunga, och mjälte. Enzymet kan omvandla PGH_2 till TXA_2 , samt PGH_3 till TXA_3 . Dock accepteras ej PGH_1 som substrat. Produkten TXA_2 är mycket instabil, halveringstid i frånvaro av enzymer ca 30 sek. Sönderfaller till den stabila föreningen TXB_2 som saknar biologisk aktivitet. Då TX saknar den för PG typiska femkolsringen, utgör dessa nomenklaturmässigt en separat grupp.



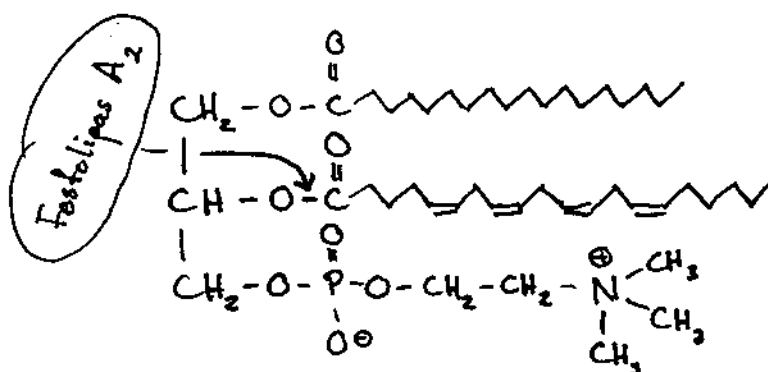
PG-biosyntes, 2-serien (från arachidonsyra).

Observera att olika PG kan bildas genom så kallad transcellulär metabolism. Detta innebär att endoperoxid bildad i en cell kan överföras till en annan cell, kanske av annan typ, för vidare metabolism.

Härmed har biosyntesen av PG₂-serien beskrivits. PG₁- respektive PG₃-serierna bildas analogt, från andra fettsyror. Då olika matvanor kan ge övervikt för olika essentiella fettsyror i kosten, kan dieten påverka en individs möjlighet att bilda PG av de olika serierna. Sålunda är arachidonsyra (som är en sk n-6 fettsyra) dominerande i vår föda (ger PG₂), medan inuiter får i sig mycket 5,8,11,14,17- eicosapentaensyra (en sk n-3 fettsyra) genom fiskdiet, och bildar därmed mera av PG₃-serien. Detta har betydelse för den lägre incidensen av trombos (blodpropp) bland inuiter jämfört med skandinaver (jfr biologiska effekter).

2. Reglering av PG biosyntes, frisättning av arachidonsyra.

COX omvandlar fleromättade fettsyror till PGH, så snart fri fettsyra finns tillgänglig. Frisättningen av arachidonsyra, från cellmembranens fosfolipider, reglerar därför PG-biosyntesen. Denna frisättning katalyseras av ett fosfolipas A₂ som hydrolyserar esterbindningen vid fosfolipidens 2-position. Ett särskilt cytosolärt fosfolipas A₂ (cPLA₂), vilket aktiveras vid höjd intracellulär Ca²⁺ halt, är viktigt för frisättningen av fettsyror ämnade för PG och TX biosyntes. Detta fosfolipas är större (MW ca 85.000) än fosfolipaser i pankreassaft och lysosomer (MW ca 14.000). I den vilande cellen är cPLA₂ löst i cytosolen, men vid aktivering bindes enzymet till kärnmembranet. Även lysosomalt fosfolipas A₂ (sPLA₂) kan frisätta arachidonsyra för PG-biosyntes, t ex vid cellskada/celldöd. Figuren visar fosfatidylkolin, med arachidonsyra förestrad till position två. Fosfolipas A₂ hydrolyserar estern enligt pilen:

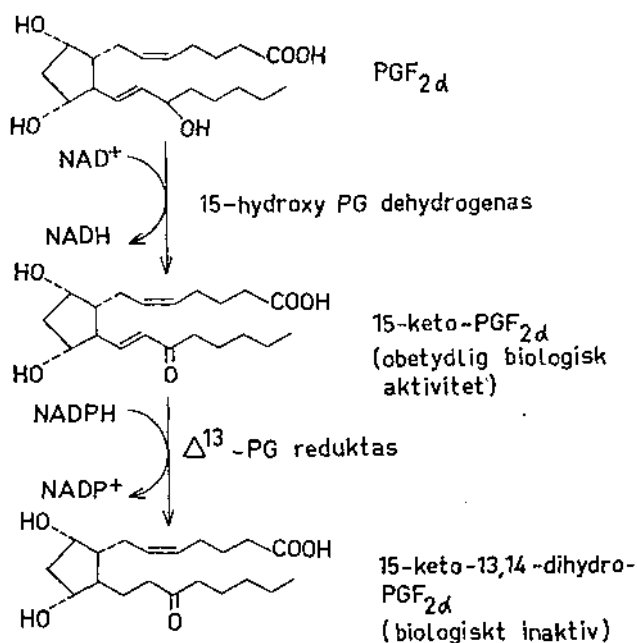


PG-biosyntes kan hämmas av NSAID-preparat (se ovan) men även av antiinflammatoriska steroider, t ex dexametason. Två mekanismer för steroidernas effekt på eicosanoid biosyntes har presenterats. Den ena består i hämning av biosyntesen av enzymet cPLA₂, och därmed minskad frisättning av essentiella fettsyror

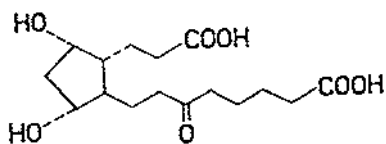
för PG och TX biosyntes. Den andra mekanismen består i hämning av biosyntesen av enzymet PG-endoperoxidsyntas av typ 2.

3. Metabolism av PG och TX.

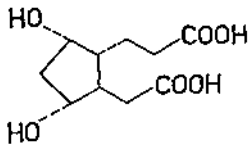
Typiskt för dessa lokala hormoner är den effektiva nedbrytningen, varigenom effekter på hela organismen undviks. Sålunda blir den biologiska halveringstiden kort, mindre än 30 s i blod för PGE, PGD, PGF. Metaboliserande enzym finns i alla organ. Högst är kapaciteten i lunga, njure och lever. Först oxideras hydroxylgruppen på kol 15 till en keton, katalyserat av ett dehydrogenas (som nyttjar NAD^+ eller NADP^+ som cofaktor). I steg två reduceras dubbelbindningen vid kol 13, av Δ^{13} PG reduktas (NADH är cofaktor). Den erhållna metaboliten är biologiskt inaktiv.



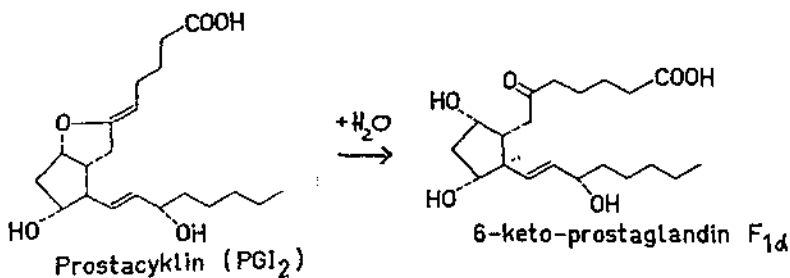
Före utsöndring via njurarna nedbryts PG ytterligare (huvudsakligen i levern) genom β -oxidation. Dessutom sker ω -oxidation, ger en hydroxylgrupp på kol 20, vilken kan oxideras till en karboxylsyragrupp. Slutligen har vi alltså en dikarboxylsyra, eventuellt nedkortad från bägge ändarna genom β -oxidation. Som exempel har huvudmetaboliten av $\text{PGF}_{2\alpha}$ i urin hos människa följande struktur:



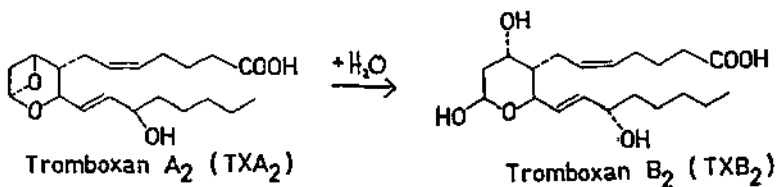
Den kan degraderas ända ned till:



PGI₂ (prostacyclin) är en instabil prostaglandin med biologisk aktivitet (t 1/2 ca 5 - 10 min). Den reagerar spontant med H₂O till 6-keto-PGF_{1α} som är biologiskt inaktiv. 6-keto-PGF_{1α} metaboliseras som en vanlig PG.



TXA₂ är en kortlivad biologiskt aktiv prostaglandin, vilken spontant hydrolyseras till den biologiskt inaktiva TXB₂ (t 1/2 för TXA₂ ca 30 s). Dock kan TXA₂, som är en reaktiv instabil molekyl, även till viss del reagera med proteiner, och inaktiveras på detta sätt. Hydrolyys av TXA₂ till TXB₂:



TXB₂ metaboliseras vidare, i huvudsak enligt samma mönster som för PG, för att ge slutprodukter passande för utsöndring.

4. Biologiska effekter, PG-receptorer.

Arachidonsyrametaboliter av olika slag brukar beskrivas som lokala hormoner. Härmed menas att de ej insöndras systemiskt, och ej är avsedda att ge generella effekter i hela organismen. Snarare utsöndras de lokalt, och har effekter i den omedelbara omgivningen. Den vanligen mycket effektiva metabolismen förhindrar mer utbredda effekter. En lista över alla effekter av PG och TX skulle bli mycket lång, då man i olika experiment ofta har sett effekter av PG. Dock är det ofta svårt att dra slutsatser angående den precisa fysiologiska eller patofysiologiska betydelsen av gjorda

observationer. Som exempel kan nämnas effekterna av PG på olika njurfunktioner och blodtrycks-reglering. Mycket laborativt arbete har lagts ned och somliga anser sig ha skäl att tro att PG har betydelse för utveckling av essentiell hypertension, men enighet råder ej.

Några områden där betydelsen av PG är mera etablerad kommenteras på föreläsningarna. Dessa är PG i samband med hemostas och trombosbildning, PG i obstetrike, PG vid inflammation, samt om PG i magslemhinnan. Tabell över effekter av PG och TX:

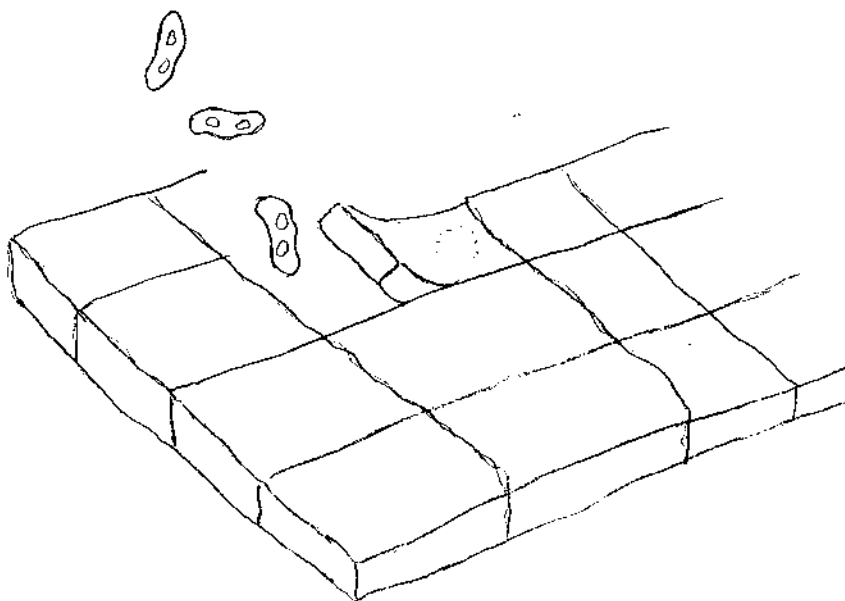
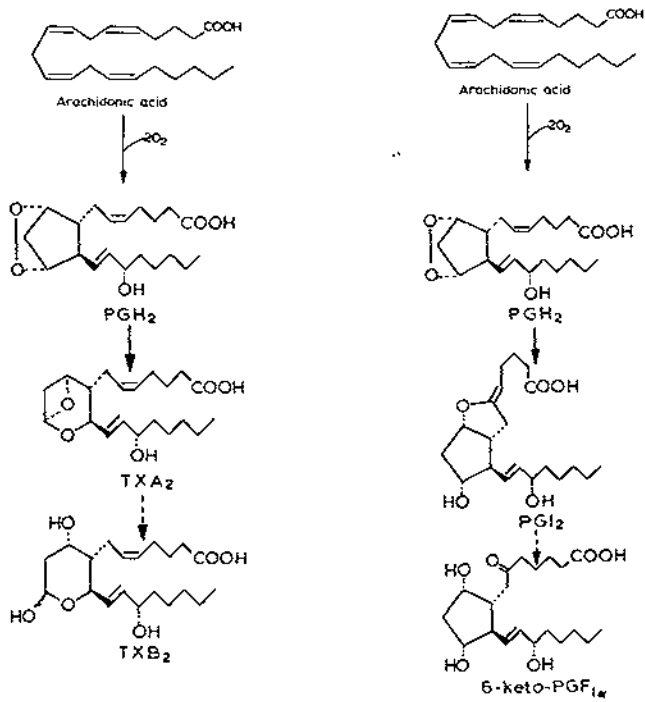
- PGF Kontraherar glatt muskulatur i uterus vid förlossning.
Kontraherar glatt muskulatur i bronker. Dock ej viktig som mediator vid astma hos människa.
PGF-antagonist kurerar glaukom (Jfr FASS, Xalatan).
- PGE Relaxerar glatt muskulatur i arterioli. Alltså en vasodilator, tex vid inflammatorisk reaktion.
Ökar vasopermeabilitet, vid inflammatorisk reaktion.
Relaxerar glatt muskulatur i bronker.
Vid förlossning: dilaterar cervix, kontraherar glatt muskulatur i uterus.
Uppkomst av feber.
Bidrar till magslemhinnans skydd mot syra.
Hämmer granulocytaktivitet vid inflammatorisk reaktion.
Bibehåller en öppen ductus arteriosus hos fostret.
Attenuerar effekten av ADH i njurens samlingsrör.
I fettväv hämmas lipolys.
Påverkar ben-metabolism, osteoblaster och osteoclaster
Coloncancer
- PGI₂ Hämmer trombocyttaggregering.
Generell vasodilator, då glatt muskulatur i arterioli relaxeras.
Dilaterar även coronarartärer.
- TXA₂ Aggregerar trombocyter.
Kontraherar coronarartärer.

Prostaglandiner och TXA₂ verkar på målcellerna via membranreceptorer, som alla liknar rhodopsin-receptorn och därmed karaktäriseras av sju domäner som går igenom cellmembranet. Dessa receptorer aktiverar i sin tur olika system av intracellulära budbärare via G-proteiner. Åtta olika receptorer har beskrivits, varav fyra olika för PGE₂. Tabellen visar vilken intracellulär budbärare respektive receptor påverkar, samt effekten i mus av ”knock-out” av genen för respektive receptor. Observera att fenotypen i mus ej alltid stämmer med situationen hos människan. Sålunda ger knock-out av PGD₂-receptorn minskade symptom vid allergisk astma hos mus, men PGD₂ anses ej vara en viktig mediator i samband med astma hos människan. Nya rön har snarare visat att PGD₂ har betydelse för allergisk snuva, och PGD₂-antagonister prövas nu som drog för att minska allergisk rhinit. Observera även de köns-specifika funktionerna för olika PGE-receptorer vad gäller vasodilatation.

Receptor för:	Intracellulär budbärare	Fenotyp efter "targeted gene disruption (gene knock-out)" indikerar funktion hos mus, i samband med:
PGD ₂	cAMP ökar	Symptom vid allergisk astma Normalt sömn mönster
PGE ₂ , typ 1	Ca ²⁺ ökar	Uppkomst av maligna celler vid experimentell colon cancer (azoxymethane) Smärta (allodyni) Vasodilatation efter PGE ₂ (male mice)
PGE ₂ , typ 2	cAMP ökar	Ägglossning och befruktning Vasodilatation efter PGE ₂ (female mice) Bronchodilatation efter PGE ₂
PGE ₂ , typ 3	cAMP minskar	Feber efter pyrogener Smärta Motverkan av vasodilatation (male mice)
PGE ₂ , typ 4	cAMP ökar	Förslutning av Ductus Arteriosus Vasodilatation efter PGE ₂ (female mice) Benbildning samt ben-resorption
PGF _{2α}	Ca ²⁺ ökar	Förlossning, som försvåras eller uteblir
PGI ₂	cAMP ökar	Motverkan av trombocyt-aggregering Svullnad vid inflammation Smärta (acetic acid writhing)
TXA ₂	Ca ²⁺ ökar	Trombocyt-aggregering

De fyra olika receptorerna för PGE kan ge möjligheter att påverka specifika effekter med selektiva receptorantagonister.

5. TXA₂ och PGI₂ vid trombos, att fylla i vid förel.



PGI₂ och hjärta kärl

Förutom att motverka trombocyt aggregering har PGI₂ troligen flera andra fördelaktiga effekter. Dessa har påvisats genom "knockout" av PGI₂ receptorn hos möss (IP^{-/-}) (Fitzgerald et al 2005). Hos mössen gav detta upphov till:

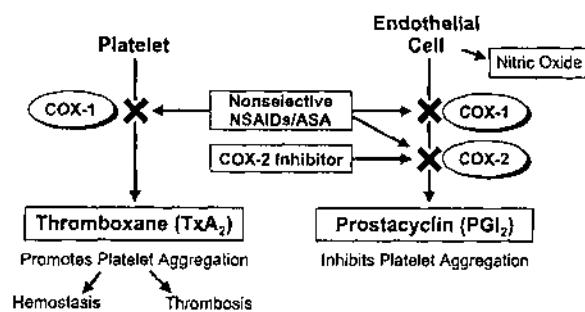
- Saltinducerad hypertension
- Hypertrofi och fibros av hjärtmuskulaturen
- Hyperplasi av lamina intima i kärl utsatta för "flow-induced vascular remodeling"

Alltså antages PGI₂ motverka sådan patofysiologi, även hos människa.

Kvinnor i fertil ålder har mindre hjärnkärl sjukdom jämfört med män i samma åldrar. Detta har kopplats till estrogen. Studier av "knock-out" möss indikerade (Fitzgerald et al 2004) att "estrogen acts on estrogen receptor subtype α to up-regulate the production of atheroprotective prostacyclin, PGI₂, by activation of cyclooxygenase 2 (COX-2)". Alltså är det möjligt att estrogen-effekten medieras av PGI₂, även hos människa.

Genom minskad tromboxansyntes kan trombos förebyggas

Två principer, lågdos aspirin respektive ökat intag av omega-3 fettsyror (= omega-3 PUFA, polyunsaturated fatty acids). Acetylsalicylsyra hämmar COX-1/2, se sidan 3. Lågdos aspirin ger dock förträdesvis hämning av COX-1 i trombocyter, medan COX-2 i systemkretsloppets kärlendotel påverkas endast i liten grad. Acetylsalicylsyra har kort halveringstid (ca 20 min) i cirkulationen, trombocyternas COX-1 hämmas företrädesvis i porta-kretsloppet, där acetylsalicylsyran är intakt. Koncentrationen acetylsalicylsyra i systemkretsloppet blir ej lika hög. Vidare har kärlendotelet cellkärna, och kan tillverka nytt protein i den mån COX-2 har inaktiverats. Trombocyterna däremot saknar cellkärna, och har låg kapacitet för nysyntes av protein. Sålunda ger lågdos aspirin en ganska selektiv hämning av TXA₂, medan PGI₂ sparas. Alltså får man en anti-aggregerande effekt.



Effects of nonselective NSAIDs, COX-2 inhibitors, and aspirin on thromboxane and prostacyclin synthesis.

Nyttan av lågdos aspirin:

- Bland patienter med kardiovaskulär sjukdom, lågdos aspirin (75-100 mg per dag) hävdas skydda 10-20 av 1000 patienter mot trombos.
- Minskar "serious vascular events" (hjärtinfarkt, slaganfall (stroke), död) med 25%, i denna grupp av patienter.
- Samtidigt ökar risken för magblödning, med 1-2/1000. Risken för hjärnblödning ökar med 1-2/10.000.
- Nyttan överväger i denna grupp. För friska "asymptomatic subjects" ingen bevisad nytta av lågdos aspirin.

Den danske läkaren Dyerberg fann vid jämförelse av populationen på Grönland, med Danmark (Skandinavien) att ökat inlag av fisk i födan ger lägre trombosincidens. Vid ökat intag av föda av marint ursprung (fet fisk) höjs andelen av omega-3 fettsyror (t ex eicosapentaen syra) i cellernas fosfolipider. Därmed bildas mera PG av 3-serien, och mindre av 2-serien. Från eicosapentaensyra omvandlas av COX-1/2 till endoperoxiden PGH₃, som i trombocyter metaboliseras vidare till TXA₃. Dock har TXA₃ endast dålig proaggregerande effekt. Samtidigt metaboliseras PGH₃ i kärlendotel vidare till PGI₃ som har god anti-aggregerande effekt. Därmed ger ökad kvot eicosapentaensyra / arachidonsyra en minskad trombosbenägenhet.

Omega-3 fettsyror har även en rad andra goda effekter, se följande tabell.

Physiological effects, N3 PUFA (Jump, D.B., JBC 2002)

Target system	Effect	Likely mechanism
CNS	Improved cognitive function	Membrane composition
Immunsystem	Immuno-suppressive Anti-infl.	Membranes Eicosanoids
Cardiovascular	Anti-arrythmia Anti-thromb.	Membranes Eicosanoids
Serum lipids	Lowers triglycerides Suppr. lipogenesis Increased FA oxidation Suppr. VLDL synthesis	PPAR α and γ SREBP-1c, LXR PPAR α PPAR α , HNF4 α
Skeletal muscle	Improved insulin sensitivity	Membranes PPAR α and γ

Vad gäller effekten på serumlipider kan omega-3 PUFA jämföras med Fibrater, alltså en typ av farmaka som har liknande effekt. Fibrat-typen av lipid sänkande droger verkar genom att aktivera PPAR α .

Vad gäller effekten på skelettmuskulaturens insulinkänslighet kan omega-3 PUFA jämföras med "glitazoner", som användes vid diabetes typ 2. Även dessa farmakologiska PPAR γ agonister ökar skelettmuskulaturens känslighet för insulin.

Tidigare har man fokuserat mycket på kvoten omega-3 / omega-6 fettsyror i dieten. På senare tid förespråkas att både omega-3 samt omega-6 förebygger "coronary heart disease" (CHD). Linolsyra (den vanligaste omega-6 fettsyran i vårt kosthåll) sänker kvoten total-kolesterol / HDL-kolesterol, se "American Heart Association Advisory" Harris WS et al, Circulation, 2009; 119:902-907. I denna "advisory" påpekas att det är totalintagen av de olika omättade fettsyrorerna som är det väsentliga, snarare än kvoten. Samt att man bör reducera intaget av mättade fettsyror och raffinerat socker, till förmån för fleromättade fettsyror.

Från Wikipedia 141027, olika fettsyror, % av totalfett i olika matoljor

	Palmolja	Olivolja	Rapsolja	Majsolja	Linfröolja
mättat	49	14	7	13	6-9
enkel-omättat	37	72	63	28	10-22
fler-omättat omega-6	9	10	20	58	12-18
fler-omättat omega-3		1	10	1	56-71

6. COX-hämmare kan skada magslemhinnan

PGE₂ ger cytoprotektiv effekt i magsäcken. PGE₂ stimulerar mucusproduktion och mucus-adhesivitet, kanske genom påverkan av jon-transport i magsäckens epitel. Skyddar mot olika agens (t ex pentagastrin, etanol). I magslemhinnan finns främst COX-1 Det är väl känt att NSAID (t ex aspirin) kan ge magsår. Detta på grund av försämrat mucus samt ökad blödnings-benägenhet. Hb sjunker lite efter vanliga NSAID (inklusive aspirin), vilket anses avspegla diffus blödning från magtarmkanalen. Det hävdas att regelbundet intag av vanliga NSAID, kan ge blödande magsår, ofta utan föregående besvär. 16.500 dödsfall (?) årligen i USA. Men, bland patienter med kardiovaskulär sjukdom är lågdos aspirin till mera nytta än skada (se ovan).

För att erhålla ett NSAID preparat som skonar magslemhinnan har man tillverkat en kombination av NSAID (diclofenac) samt PGE analog (misoprostol). Drognamn i FASS: Arthrotec.

Selektiva COX-2 hämmare (COXIBs) har lanserats, och dragits in på grund av kardiovaskulära biverkningar. Tanken var att COX-2 inducerat av proinflammatoriska stimuli (t ex interleukin -1 β) står för merparten av PG som leder till smärta,

inflammation och feber. Samtidigt är PG produktionen i magslemhinnan företrädesvis katalyserad av COX-1. Alltså skulle hämning av COX-2 vara anti-inflammatoriskt, samtidigt som magslemhinnan skonades. Exempel på COX-2 hämmare i FASS (med varierande grad av COX-2 selektivitet) är Celebra samt Arcoxia.

Men, den cardiovasculara problematiken har överskuggat nyttan med COX-2 hämmare. COX-2 hämmare ger ökad trombosrisk. COX-2 ”not found in normal vessels, but a lot in atherosclerosis”. Trombocyter innehåller COX-1. Alltså ger hämning av COX-2 att biosyntes av PGI₂ i kärlendotelet minskar, medan biosyntes av TXA₂ i trombocyter kvarstår. Alltså blir COX-2 hämmare pro-aggregerande, särskilt om man är åderförkalkad (trombosrisk). Man har påvisat ökad incidens av hjärtinfarkt, slaganfall (stroke), samt cardiovasculara dödsfall hos patientgrupper som ligger i en riskzon (etablerad åderförkalkning), då dessa behandlats med selektiva COX-2 hämmare. Men, troligen föreligger ej sådan risk för en ung frisk person.

Vidare är det förstås inte så enkelt att COX-1 bara är till nytta medan COX-2 bara skulle ge PG för smärta och feber. Den förenklade (initiala) tanken var alltså att COX-1 skulle ge PG för normal homeostas, t ex i magslemhinnan. Medan COX-2 skulle ge PG vid inflammation.

Nu vet man dock att:

- COX-2 uttryckes konstitutivt i njure, CNS.
- COX-2, betydelse för ovulation, implantation.
- COX-2 ”not found in normal vessels, but a lot in atherosclerosis”. COX-1 i trombocyter. Alltså blir COX-2 hämmare proaggregerande, särskilt vid patologi som åderförkalkning (då TxA₂ stimulerar trombocyttaggeregning).
- Selektiva COX-1 hämmare skonar också magslemhinnan. Hämning av COX-1 gav uppreglering av COX-2. Troligen måste både COX-1 samt COX-2 hämmas för slemhinneskada!

Några punkter om COX-2 hämmare, så kallade “COXIBs”:

- Ger god smärtlindring.
- Två selektiva COX-2 hämmare, ger minskad risk för magblödning jämfört vanliga NSAID.
- COX-2 hämmare ger ökad risk för “cardio-vascular events”, särskilt hos kärlsjuka, då ju syntesen av PGI₂ hämmas.
- Somliga gamla NSAID, som Diclofenac (Voltaren) har visat sig vara ungefär lika COX-2 selektiva som nya COXIBs. Kan alltså ge hämning av PGI₂ syntes, som COXIBs. Kanske samma ökade risk för “cardiovascular events” vid långtidsbehandling med till exempel Voltaren?
- Information från Läkemedelsverket 6:2006: ”Tillgängliga data talar för att behandling med hög dos diklofenak eller hög dos ibuprofen under lång tid kan vara förenlig med ökad risk för blodpropp, t ex hjärtinfarkt eller stroke.”
- Vid långtidsbehandling, väg risker för/emot! Gäller även gamla NSAID!

- Selektiva COX-2 hämmare i FASS, bara en kvar, Etoricoxib (Arcoxia).
- COX-2 hämmare (liksom aspirin) motverkar att colonpolyper övergår i cancer.

7. NSAID minskar coloncancer, COX-2 "drugtarget" vid coloncancer

Epidemiologiska studier visade att användning av aspirin (eller andra NSAID) regelbundet gav 40-50% minskad risk för coloncancer. Man har funnit en relation mellan mängd COX-2 i transformerade epitelceller, och tendens att invadera underliggande vävnad. Tidig hämning av COX-2 kan vara fördelaktigt. Blockerar utveckling av maligna tumörer, får premaligna tumörer att gå i regress. COX-2 kopplat till angiogenes (kärlbildning) i tumören.

	COX-2
Normal	
Early adenoma (mutated adenomatous polyposis coli (APC) gene)	+/-
Late adenoma (K-ras mutated for 60%)	++
Cancer (p53 mutated)	+++

Det publiceras nu alltfler studier som stödjer att olika eicosanoider är av betydelse för uppkomst och/eller utveckling av flera olika former av cancer, alltså ej bara coloncancer. Epidemiologiska studier har påvisat positiva effekter av ökat intag av omega-3 fettsyror (Eicosapentaen syra (C20:5, Docosahexaen syra (C22:6)) även i dessa sammanhang.

Vanligaste hypotesen för att förklara dessa effekter är att minskad biosyntes av eicosanoider från arachidonsyra (C20:4) ger ändrat immunrespons av/mot cancerceller och en modulerad inflammation. Man har även observerat effekter på:

- cell proliferation
- apoptos
- angiogenes

Det tål säkert att diskuteras om det är totalintaget av olika fettsyror, eller kvoten omega-3 / omega-6, som är betydelsefullt i dessa sammanhang (jfr ovan, angående CHD). Tabellen nedan (Larsson S.C. et al, Am J Clin Nutr, 2004) illustrerar totalfett samt denna kvot i några feta fiskar, en mager fisk, samt fläskfilé.

Omega-3 fettsyror: eicosapentaensyra (EPA), alfa-linolensyra (α -LNA), docosahexaensyra (DHA). Omega-6: linolsyra (LA), arachidonsyra (AA).

	Fett g/100g	EPA g/100g	α -LNA	DHA g/100g	LA g/100g	AA g/100g	n-3/n-6
Makrill, Baltic	9,3	0,56	0,29	0,83	0,54	0,03	7,1
Lax, Atlanten	12	0,49	0,18	1,33	0,41	0,11	3,8
Sardiner	15	1,24	0,22	1,77	0,22	0,06	11,1
Torsk, Atlant.	0,7	0,06	trace	0,17	trace	0,02	11,1
Fläskfilé	1,6	trace	0,01	0,01	0,12	0,01	0,25

PG och obstetrik, några stolpar för förel.

I uterus / placenta / amnion kan bildas PGF_{2a} och PGE_2 . I djurförsök har det visats att mängden COX-2 ökar i dessa vävnader inför partus.

Vid partus:

PGE_2 ger mognad av cervix. Oxytocin inducerar COX-2 i uterus, stimulerar därmed initial PG-biosyntes då förlossning startar, därefter "fail safe mechanism". PGE_2 och PGF_{2a} inducerar kontraktion av glatt muskulatur i uterus. NSAID försvårar förlossning. PGE_2 analog ges som vagitorium för att inducera partus.

Ductus arteriosus:

PGE_2 håller DA öppen hos fostret. NSAID kan ge för tidig slutning eller förträngning, med pulmonell hypertension som följd.

Medicinsk abort:

Under graviditet dämpas uterus kontraktilitet av höga halten progesteron. För medicinsk abort användes progesteron-antagonisten mifepristone tillsammans med PGE analogen misoprostol. Förutom ökad uteruskontraktilitet, gör mifepristone att myometriet blir mer känsligt för PG. Mindre mängd misoprostol tillräckligt vid denna kombinationsbehandling.

Dysmenorrhea:

Smärtsam menstruation utan organisk sjukdom, 5% incidens. Enligt teorin beror detta på PG-inducerad kontraktion av uterus vilket ger ischemisk smärta. NSAID hjälper.

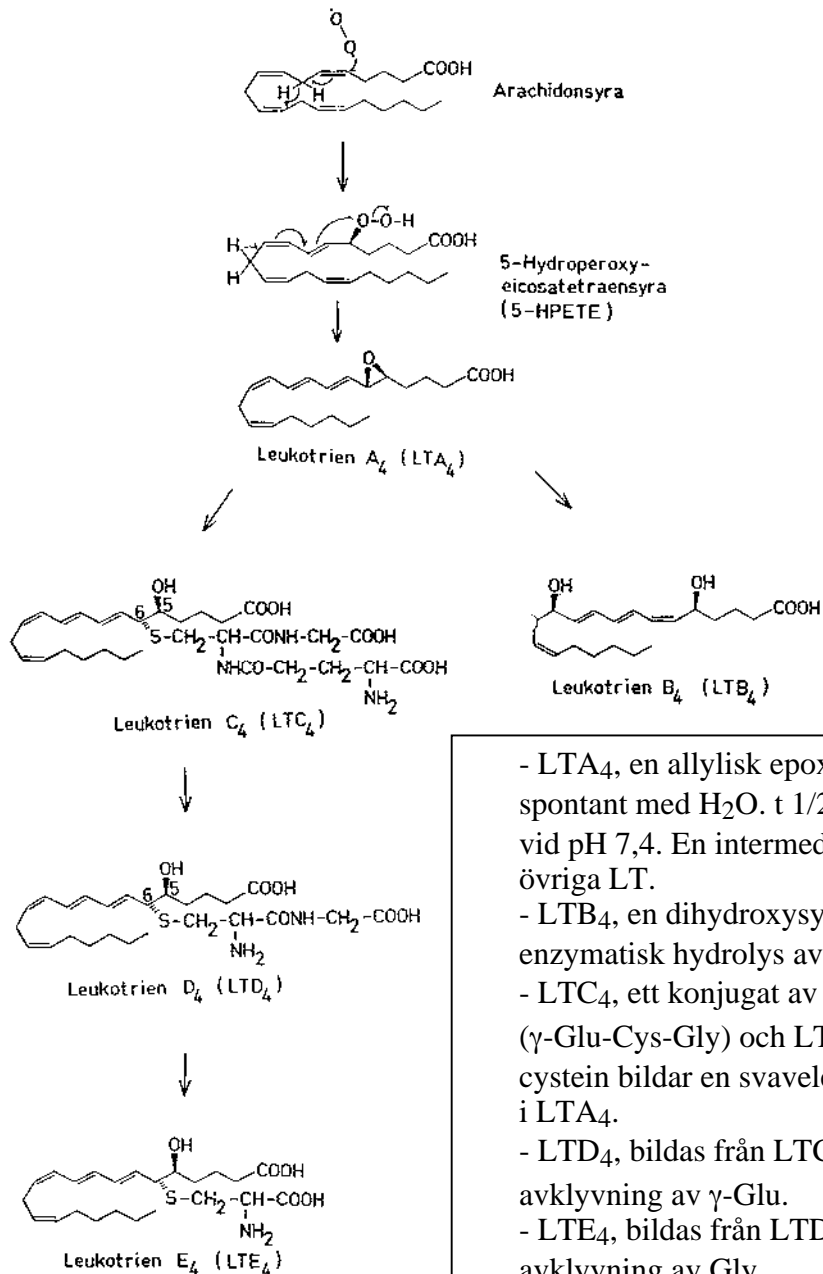
Seminalplasma, rik på PG. Olika ämnen (TGFbeta, prostaglandiner) i sädesvätskan ger:

- Bättre spermieöverlevnad.
- Modifiering av kvinnans lokala immunförsvar, "to tolerate the conceptus".
- Molekylära och cellulära förändringar i endometriet, för att facilitera embryots tidigaste utveckling och implantation.

B. Leukotriener (LT).

1. Biosyntes och strukturer.

Leukotriener (LT) bildade från den essentiella fettsyran arachidonsyra utgör 4-serien i LT-nomenklaturen (fyra dubbelbindningar). Dessa strukturer visas i nedanstående biosyntes-schema. LT kan även bildas från omega-3 fettsyran eicosapentaensära.



- LTA₄, en allylisk epoxid, reagerar därmed spontant med H₂O. t 1/2 mindre än 1 min vid pH 7,4. En intermediär i biosyntesen av övriga LT.
- LTB₄, en dihydroxysyra, bildas genom enzymatisk hydrolys av LTA₄.
- LTC₄, ett konjugat av tripeptiden glutation (γ-Glu-Cys-Gly) och LTA₄. Svavlet på cystein bildar en svaveleter-brygga till kol 6 i LTA₄.
- LTD₄, bildas från LTC₄ genom avklyvning av γ-Glu.
- LTE₄, bildas från LTD₄ genom avklyvning av Gly.

LT av 4-serien bildas genom oxygenering av arachidonsyra. En O₂-molekyl kopplas till fettsyran med hjälp av enzymet 5-lipoxygenas (5-LO). Samma enzym katalyserar även nästa steg, omvandlingen av 5-HPETE till LTA₄. 5-lipoxygenasets egenskaper:

- Ett lösligt protein med järn som prostetisk grupp (dock ej hembundet järn). Vid aktivering binder sig enzymet till membraner. Aktiveras främst av Ca^{2+} .
- Väger 80.000 Dalton, aktivt som monomer.
- Påvisat i granulocyter, monocyter, makrofager, mastceller, dendritiska celler, B-lymfocyter.
- Liksom COX självaktiveras 5-LO, troligen genom reaktion med radikaler bildade vid katalysen.
- Hämmas ej av NSAID eller glucocorticoider.

LTA₄ omvandlas vidare till LTB₄ genom enzymatisk hydrolys, katalyserad av LTA₄-hydrolas, eller till LTC₄ genom enzymatisk koppling till glutation, katalyserad av ett speciellt glutation-S- transferas (LTC₄-syntas). Vilken slutprodukt som bildas beror på vilket av dessa enzymer som finns tillsammans med 5-LO i den aktuella cellen. Transcellulär metabolism av LTA₄ (liksom för PGH₂) förekommer. Detta är en förklaring till den utbredda förekomsten av LTA₄-hydrolas, detta enzym finns i flera olika cellslag som saknar 5-LO. Vidare metabolism av LTC₄ till LTD₄ ombesörjes av gamma-glutamyl transpeptidas, och från LTD₄ till LTE₄ av dipeptidas. Både transpeptidaset och dipeptidaset är lokaliserat till utsidan av cellmembraner, sålunda kan LTC₄ i plasma metaboliseras av dessa enzymer. Observera att LTC₄, LTD₄ samt LTE₄ alla är biologiskt aktiva, tillsammans kallades de (innan man kände till leukotrienerna) "slow reacting substance of anaphylaxis".

2. Reglering av biosyntes.

En del av regleringen av LT biosyntesen, består i kontroll av frisättning av arachidonsyra, på samma sätt som för PG biosyntes, se ovan. Dessutom styrs LT biosyntes genom aktivering av 5-LO. Den intracellulära Ca^{2+} halten har härmed en nyckelroll, då både fosfolipas A₂ samt 5LO aktiveras av Ca^{2+} . Sålunda kan ett hormon (eller annat stimulus) som binder till en receptor kopplad till fosfatidylinositolcykeln, tänkas stimulera LT biosyntes. 5-LO kan (liksom cPLA₂) även aktiveras av MAP kinas katalyserad fosforylering. Observera att NSAID ej hämmar LT biosyntes. Om det är sant att antiinflammatoriska steroider hämmar frisättning av arachidonsyra från fosfolipider (jfr sid 6) får sådana droger effekt på biosyntes av PG, TX samt LT. Detta har angetts som en möjlig delförklaring till steroidernas bredare antiinflammatoriska effekt.

3. Metabolism av LT.

LTB₄ metaboliseras genom omega-oxidation vilket ger hydroxylering på kol 20. Ett särskilt cyt-P-450 isoenzym som finns i granulocyter ombesörjer denna hydroxylering. 20-OH-LTB₄ bibehåller viss biologisk aktivitet, oxidationsprodukten 20-COOH-LTB₄ är dock inaktiverad. Dikarboxylsyran 20-COOH-LTB₄ degraderas sedan från bägge ändarna genom β -oxidation (jämför PG), eventuellt ända ner till CO₂ och H₂O. LTE₄ i plasma tas upp i njure och lever för utsöndring i urin respektive galla.

4. Biologiska effekter av LT samt PG vid inflammation.

LT samt PG har betydelse för akut inflammation. En akut inflammatorisk reaktion syftar till att undanröja invaderande organismer (vid en infektion) och död vävnad (t ex efter en infarkt). Den inflammatoriska reaktionen kan delas i en vaskulär del (ledande till ökad genomblödning och perfusion) samt en cellulär del (aktivering av vita blodkroppar). Se t ex Guyton&Hall, 9th ed, sid 439.

I samband med en inflammatorisk reaktion bildas inflammatoriska mediatorer, som ombesörjer att olika delar av den inflammatoriska reaktionen fungerar. För att en substans skall anses vara en äkta inflammatorisk mediator, skall enligt Sir Henry Dale (1929) följande kriterier vara uppfyllda:

- 1) Förekomst av substansen i vävnad skall reduceras av någon antiinflammatorisk drog. Alternativt skall substansen inaktiveras av någon antiinflammatorisk drog.
- 2) Substansen skall ge upphov till något eller några av de fem inflammatoriska tecknen, se nedan.
- 3) Man skall kunna visa att substansen bildas vid en inflammatorisk reaktion.

De fem inflammatoriska tecknen:

- Rubor, rodnad pga vasodilatation som ger ökad genomblödning.
- Calor, höjd temperatur pga ökad genomblödning.
- Tumor, ökad vasopermeabilitet ger ödem och svullnad.
- Dolor, smärta.
- Functio laesa, betyder "nedsatt funktion" t ex i en inflammerad led. Detta som en följd av frisättning av vävnadsnedbrytande ämnen från leukocyter. Även pga svullnaden.

LT och PG, uppfyller Sir Dale's kriterier enligt följande:

1) NSAID (aspirin) hämmar PG-biosyntes. Droger under klinisk prövning hämmar LT-biosyntes, eller är LT-antagonister (motverkar LT's effekter på receptorerna).

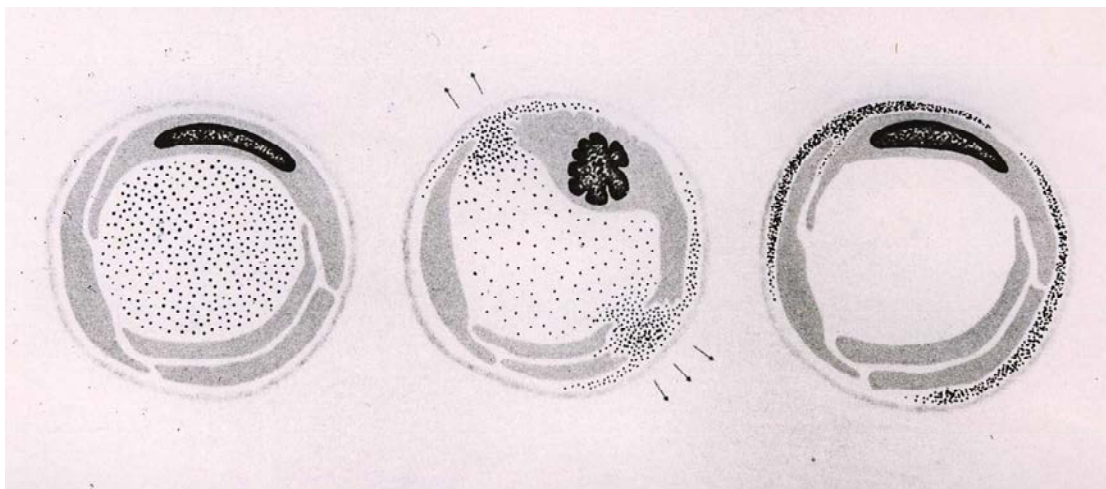
2) PG och LT bidrar till uppkomst av de inflammatoriska tecknen:

RUBOR	PGE och PGI ₂ ger dilatation av arterioli.
TUMOR	LTC ₄ , LTD ₄ , LTE ₄ ökar vasopermeabilitet i postkapillära venulae. PGE och PGI ₂ potentierar (sänker tröskeln för) histamin- eller bradykinin-inducerad vasopermeabilitetsökning.
CALOR	PG involverade i hypothalamisk temperaturkontroll.
DOLOR	PGE och PGI ₂ potentierar histamin- eller bradykinin-inducerad smärta.

FUNCTIO LAESA LTB₄ inducerar leukocyt chemotaxis. Detta ger ansamling av leukocyter till inflammerade vävnader. Frisättning av lysosomala enzymer och reaktiva syremetaboliter från dessa leukocyter ger vävnadsförstöring med påföljande funktionsnedsättning. PGE₂ höjer cAMP i granulocyter och hämmar därmed dessa aktivitet, t ex vid chemotaxis.

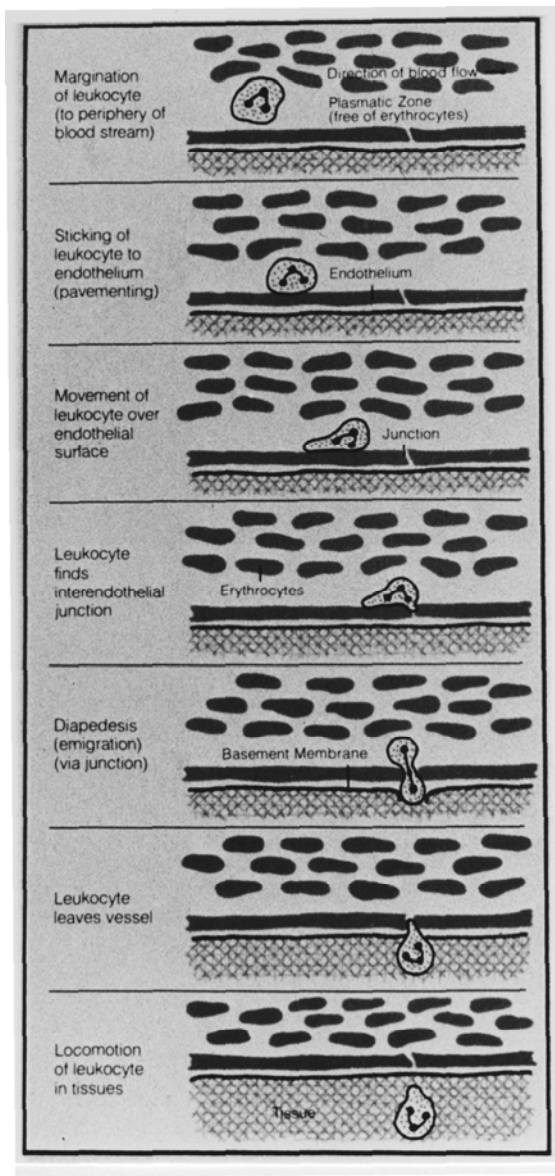
3) PG samt LT bildas i samband med inflammation, jfr föreläsning.

Observera att PGE alltså ökar den vaskulära delen av inflammationen (rubor, tumor) men hämmar den cellulära delen (functio laesa).



LT har sålunda direkt effekt på två av de inflammatoriska tecknen, tumor samt functio laesa. LTC₄, D₄ samt E₄ ger ökad vasopermeabilitet med påföljande svullnad i det inflammerade området. Främst påverkas permeabiliteten i de små venerna. Dessa LT anses orsaka sammandragning av kontraktila element i kärlendotelcellerna, med påföljande läckage av kolloidoosmotiskt aktiva makromolekyler och därmed H₂O mellan cellerna, se figur.

LTB₄ är en chemotaktisk substans. Härmed menas att LTB₄ som diffunderar ut från en inflammatorisk härd kan rekrytera ytterligare leukocyter till det inflammerade området. Härvid vandrar leukocyter ut från kärnen (diapedesis, se fig) och vidare genom vävnaden i riktning mot hög koncentration av chemotaktisk substans. På platsen för den inflammatoriska reaktionen frisätter dessa leukocyter sedan hydrolytiska enzymer samt reaktiva metaboliter av O₂ (väteperoxid, superoxidanjon, hydroxyl-radikal), för att bryta ned invaderande bakterier och död vävnad. Härvid kommer även frisk vävnad att förstöras i viss mån. LTB₄ ger alltså ansamling av leukocyter, med påföljande functio laesa.

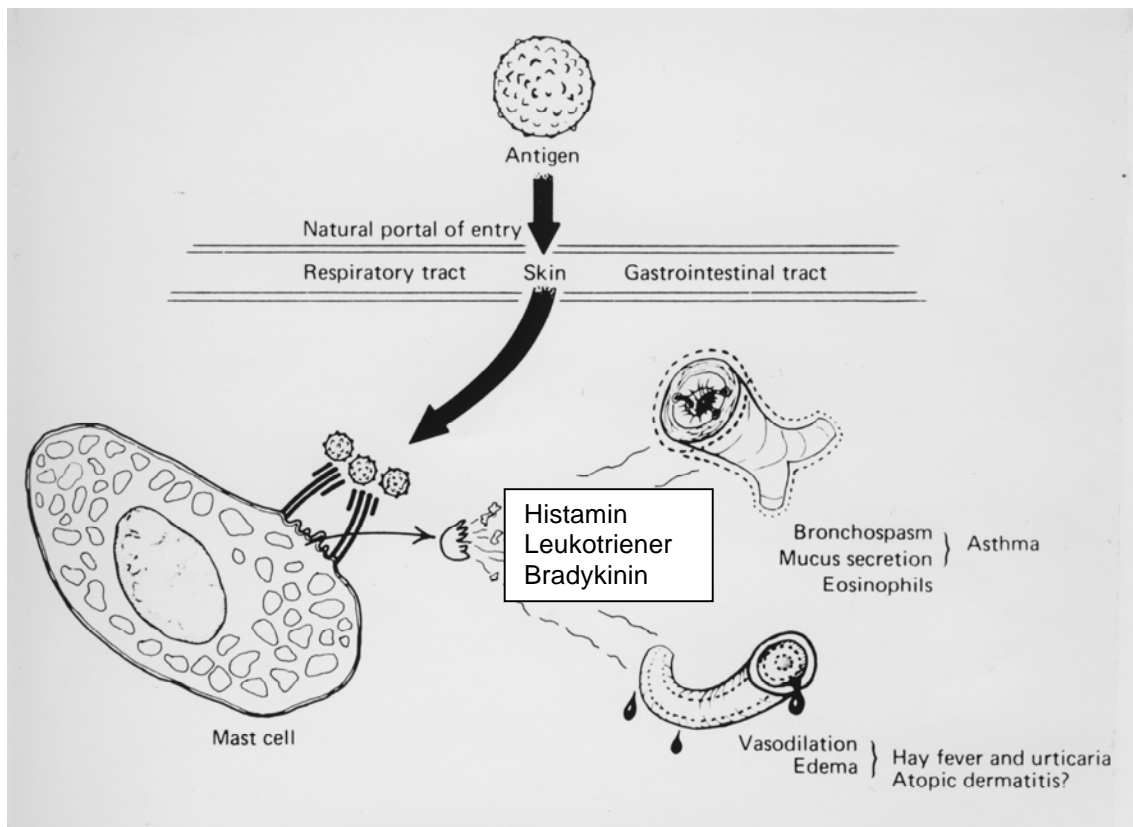


Leukocyt diapedesis.

5. Biologiska effekter av LT vid överkänslighetsreaktioner (astma).

I samband med en akut överkänslighetsreaktion där mastceller är inblandade, bildas LTC₄, D₄ och E₄. Detta stimuleras av antigen som binder till IgE-antikroppar, redan bundna till Fc-receptorer på mastcellens cellmembran (se figur). Härvid frisätts redan upplagrat histamin, samt startas biosyntesen av LT. Då detta sker i lungan blir följden en förträngning av luftvägarna som försvårar framförallt utandningen, som vid ett astma-anfall. Förträngningen har tre orsaker: kontraktion av glatt muskulatur i bronkväggarna, ödem i bronkernas slemhinna, ökad slemsekretion.

Då överkänslighetsreaktionen sker i huden blir följden plasmaläckage från lokala kärl, rodnad och svullnad, som vid allergiskt eksem. Samma sak i näsans slemhinna ger allergisk snuva. Dessa effekter var välkända före strukturbestämningen av LT. Den då okända substansen med dessa effekter, kallades "slow reacting substance of anaphylaxis" (SRS-A) som alltså är detsamma som LTC₄, D₄ och E₄ tillsammans.



Att LTC₄, D₄ och E₄ verkligen fungerar som mediatorer i samband med astma-anfall hos människa visas av att de tre mediators-kriterierna är uppfyllda:

- 1) LTC-antagonister motverkar den förträngning av luftvägarna som utlöses av allergen, hos astmatiker. Både tidig och sen minskning av FEV motverkas.
- 2) LTC₄, D₄ och E₄ ger upphov till förträngning av luftvägarna, då de ges som aerosol till försökspersoner.
- 3) Då allergen ges till astmatiker, ger detta upphov till ökade mängder LTE₄ i urin.

Liksom PG verkar LT på målceller via G-protein kopplade receptorer i cellmembranet, ("Rhodopsin-type"). Två olika LTB-receptorer samt tre olika cysLT-receptorer har beskrivits. En antagonist mot cysLT-receptor 1 (se FASS, Singulair) användes nu för behandling av astma.