

# ENDOMORFINER SOM SMÄRTLINDRING

## Nya endogena peptider sensationell upptäckt

Amerikanska forskare, under ledning av James Zadina och Abba Kastin vid Tulane University i New Orleans, har nyligen identifierat två peptider med den högsta affinitet och selektivitet för opioida  $\mu$ -receptorn som hittills någonsin observerats hos endogena substanser. Dessa peptider – som i sin struktur avviker från dynorfin,  $\beta$ -endorfin och enkefaliner – uppvisar en analgetisk potens som är av minst samma dignitet som morfinets. De nya peptiderna kallas endomorf-1 och endomorf-2, och båda har påvisats i och isolerats från kohjärna. Även om väsentliga frågor kring dessa substanser ännu återstår att utreda är upptäckten sensationell och kan innebära en ny intressant epok inom endorfinforskningen.

### Tre »klassiska» huvudgrupper

Påvisandet av opioida receptorer i hjärnan för snart 25 år sedan [1-3] ledde år 1975 fram till upptäckten av kroppsegna morfinlika substanser, som fick namnet endorfiner [4]. Idag känner vi till tre huvudgrupper av så kallade »klassiska» endorfiner, nämligen enkefaliner,  $\beta$ -endorfiner och dynorfiner [5]. Dessa peptider har samtliga den N-terminala sekvensen (Tyr-Gly-Gly-Phe) gemensam (Tabell I), och det är denna del av peptidmolekylen som svarar för den opioida effekten.

Tre huvudtyper av opioida receptorer är kända, nämligen  $\mu$ ,  $\delta$  och  $\kappa$  [6]. Enkefaliner har beskrivits som de endogena liganderna för  $\delta$ -receptorn, dynorfiner för  $\kappa$ -receptorn;  $\beta$ -endorfin har hittills ansetts vara den endogena  $\mu$ -receptoragonisten.

De klassiska endorfinerna bildas från förstadieformer som består av bio-

Tabell I. Aminosyrasekvensen hos opioida peptider.

Peptid	Struktur	Receptorpreferens
Endomorf-1	Tyr-Pro-Trp-Phe-NH <sub>2</sub>	$\mu$
Endomorf-2	Tyr-Pro-Phe-Phe-NH <sub>2</sub>	$\mu$
Hemorfin-4	Tyr-Pro-Trp-Thr	$\mu$
Hemorfin-7	Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln-Arg-Phe	$\mu$
LVV-hemorfin-7	Leu-Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln-Arg-Phe	$\mu$
$\beta$ -kasomorf-5	Tyr-Pro-Phe-Val-Glu	$\mu$
$\beta$ -kasomorf-8	Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-Pro-Ile-Pro	$\mu$
Morfeptin	Tyr-Pro-Phe-Pro-NH <sub>2</sub>	$\mu$
Tyr-MIF-1	Tyr-Pro-Trp-Gly-NH <sub>2</sub>	$\mu$
Leu-enkefalin	Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu	$\delta$
Met-enkefalin	Tyr-Gly-Gly-Phe-Met	$\delta$
Dynorfin A <sub>1-17</sub>	Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Arg-Ile-Pro-Lys-Leu-Lys-Trp-Asp-Asn-Gln	$\kappa$

logiskt inaktiva polypeptider. Dessa förstadiepeptider, så kallade propeptider, innehåller var och en flera endorfinsekvenser som via enzymer kan frigöras och ge upphov till aktiva opioidpeptider. Propeptidernas biosyntes sker i det peptiderga neuronets cellkropp, och deras gradvisa klyvning anses äga rum under transporten längs axonet ned till nervterminalen där de aktiva peptiderna lagras. Efter frisättning och avgivande effekt via stimulering av opioidreceptorer inaktiveras endorfinerna genom enzymatisk hydrolys till inaktiva fragment [7].

### Atypiska opioida peptider

Under senare år har man kunnat påvisa alternativa vägar för bildning av endogena opioida peptider. Så kan  $\beta$ -kasomorfiner [8] enzymatiskt frisättas från mjölkproteinets  $\beta$ -kasein, och hemorfiner [9] från blodproteinets hemoglobin (Tabell I). Såväl  $\beta$ -kasomorfiner som hemorfiner skiljer sig från de klassiska endorfinerna i sin struktur genom att i stället för en glycin ha aminosyran prolin näst intill det N-terminala tyrosinet.

Dessa strukturer har benämnts atypiska opioida peptider och uppvisar affinitet (om än relativt svag) för företrädesvis  $\mu$ -receptorer. Andra atypiska opioider med högre affinitet för  $\mu$ -receptorn har också beskrivits. Hit hör

tex morfeptin [10] och Tyr-MIF-1 [11] (Tabell I).

### Upptäckten av endomorf-1

En variant av den sistnämnda peptiden isolerades från kohjärna 1992 [12] av James Zadina och Abba Kastin. Redan 1989 (bl a vid en konferens i Uppsala) beskrev Zadina syntetiska varianter av Tyr-MIF-1-peptiden, som han sedan lyckades påvisa som endogent förekommande. Fortsatta arbeten med denna tetrapeptid kom att utgöra grunden för upptäckten av endomorf-1 [13].

I dessa arbeten begagnade sig Zadina och medarbetare av både farmakologiska tekniker och kombinatorisk kemi. De sökte förstärka affiniteten för  $\mu$ -receptorn hos Tyr-MIF-1 genom att substituera aminosyran i position 4 och därmed framställa alla tänkbara naturligt förekommande varianter av tetrapeptiden. Zadina och medarbetare lyckades visa att aminosyran fenylalanin i denna position gav en femtiofaldig potentiering av affiniteten för  $\mu$ -receptorn. Denna modifiering gav dessutom en avsevärt högre selektivitet för  $\mu$ -receptorn än för  $\delta$ - och  $\kappa$ -receptorerna (Tabell II).

### Selektiv $\mu$ -agonist med potent analgetisk effekt

I in vitro-försök uppvisade den nya tetrapeptiden en hög affinitet på  $\mu$ -re-

### Författare

FRED NYBERG

professor, avdelningen för biologisk beroendeforskning, institutionen för farmaceutisk biovetenskap, Uppsala universitet.

**Tabell II.** Endomorfiners bindning till och selektivitet för opioida receptorer [13]. DAMGO = [D-Ala<sup>2</sup>, N-Me-Phe<sup>4</sup>, Gly-ol<sup>5</sup>]-enkefalin är känd som en mycket potent och selektiv  $\mu$ -opioidreceptoragonist.

	Bindning till $\mu$ , $\delta$ och $\kappa$ -receptorer, K <sub>i</sub> (nm)			Selektivitet	
	$\mu$	$\delta$	$\kappa$	$\delta/\mu$	$\kappa/\mu$
Endomorfin-1	0,36	1 510	5 430	4 180	15 100
Endomorfin-2	0,69	9 230	5 240	13 400	7 590
DAMGO	0,34	190	1 300	559	3 820

ceptorer, som kunde motverkas med såväl naloxon som med mer  $\mu$ -selektiva antagonist.

Försök att mäta den analgetiska effekten hos tetrapeptiden gjordes med möss i »tail-flick«-test. Peptiden injicerades intracerebro-ventrikulärt och gav en analgetisk effekt som var helt i paritet med morfins. I jämförelse med t ex enkefalin uppvisade tetrapeptiden omkring 25 gånger högre potens och dess analgetiska effekt en avsevärt längre duration. Vid intratekala injektioner av peptiden kunde dess smärthämmande effekt styrkas i ännu högre grad.

### Isolering av endomorfiner från hjärna

Genom att framställa antikroppar mot den syntetiska tetrapeptiden kunde Zadina och medarbetare sätta upp en radioimmunologisk testteknik (RIA) för att söka detektera peptiden i vävnad. Tetrapeptiden kunde härvid identifieras i en fraktion från extrakt av kohjärna. Den aktiva substansen isolerades, och efter bestämning av dess sekvens kunde man konstatera att peptiden också förekom endogent. Den gavs namnet endomorfin-1.

Från samma fraktion lyckades forskargruppen också identifiera och strukturbestämma en ny variant av endomorfinet. Denna peptid skilde sig däri att aminosyran tryptofan i position 3 ersatts med ytterligare en fenylalanin. Denna variant av Tyr-MIF-1 uppvisade i stort sett lika hög affinitet och selekti-

vitet för  $\mu$ -receptorn och gav en analgetisk effekt jämförbar med den hos den tryptofaninnehållande tetrapeptiden. Den fick benämningen endomorfin-2.

I preliminära studier kunde Zadina med hjälp av RIA-tekniken undersöka distribution av endomorfin-1 i separata regioner i hjärnan. Peptiden påvisades i mätbara koncentrationer i talamus, hypothalamus och i striatum, där det är känt att  $\mu$ -receptorn förekommer i riklig mängd.

### Endomorfiner som analgetika?

Zadina och medarbetare har således upptäckt två nya endogena peptider som kan vara de naturliga liganderna för den opioida  $\mu$ -receptorn. Upptäckten kan innebära ett nytt genombrott inom det opioida forskningsområdet som får konsekvenser inte minst för den del som fokuseras på smärta. Kan endomorfiner komma att kunna användas som analgetika, och kan man finna vägar att stimulera deras frisättning? Är de mindre beroendeframkallande än t ex morfins? Innan man kommer fram till ett eventuellt kliniskt utnyttjande av den nya upptäckten återstår dock en hel del frågor kring peptidernas faktiska förekomst och mekanismer för deras bildande och frisättning.

Det står helt klart att peptiderna som  $\mu$ -agonister med sin potens, selektivitet och analgetiska effekt står i särklass bland hittills kända endogena opioider. Med tanke på deras struktur (en prolin aminosyra i position 2 och en amidrad C-terminal) bör de vara relativt stabila mot enzymatisk nedbrytning (jämför hemorfiner [14]). Strukturen hos endomorfiner (särskilt endomorfin-2) indikerar en hydrofob natur som kan underlätta passage över biologiska barriärer, t ex blod-hjärnbarriären.

Om peptiderna skulle ges systemiskt bör man vara observant på att deras stabila struktur skulle kunna ge dem en proteashämmande egenskap, vilken i sin tur kan ge upphov till bieffekter som ibland förekommer hos syntetiska peptidanaloger (t ex den  $\delta$ -re-

ceptorspecifika opioida peptiden Metkefamid [15]).

### Flera frågor kvarstår

De avgörande frågor som forskare i dagsläget ställer sig när det gäller endomorfinerna berör emellertid inte enbart deras eventuella potential som bas för nya analgetika utan snarare de uppgifter som ännu saknas när det gäller deras endogena förekomst. I vilka celler bildas de? Är mekanismen för deras biosyntes analog med den för enkefaliner och dynorfiner eller frisätts de från funktionella proteiner i likhet med  $\beta$ -kasomorfiner och hemorfiner? Förekommer de i CNS-regioner som processar smärtinflödet? Deltar de som endogena ligander i processer som via aktivering av  $\mu$ -receptorer leder till stimulering av hjärnans belöningssystem?

Medan många neuropeptidforskare nu gläder sig åt möjligheten att använda nya substanser står det dock klart att en del av dem känner sig tveksamma och vill invänta mer fakta innan man låter sig övertygas om endomorfinernas endogena existens och funktionella betydelse. Som analgetiska substanser är endomorfinerna dock attraktiva, och många forskare tar redan nu kraftfulla initiativ för att söka undanröja de frågor som ännu kvarstår.

Huruvida endomorfiner i naturlig förekomst gör oss mindre smärtekänsliga, och om de ger oss euforiska kickar eller inte, lär vi nog få veta inom en snar framtid.

### Referenser

1. Pert CB, Snyder S. Opiate receptor: Demonstration in nervous tissue. *Science* 1973; 179: 1011-4.
2. Simon EJ, Hiller JM, Edelman I. Stereospecific binding of the potent narcotic analgesic [3H]-ethorphine to rat brain homogenate. *Proc Natl Acad Sci* 1973; 70: 1947-9.
3. Terenius L. Stereospecific interaction between narcotic analgesics and a synaptic plasma membrane fraction of rat cerebral cortex. *Acta Pharmacol Toxicol* 1973; 32: 317-20.
4. Hughes J, Smith TW, Kosterlitz HW, Fothergill LA, Morgan BA, Morris HR. Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate activity. *Nature* 1973; 258: 577-9.
5. Akil H, Watson SJ, Young E, Lewis ME, Khachaturian H, Walker JM. Endogenous opioids: biology and function. *Ann Rev Neurosci* 1984; 7: 223-55.
6. Minami M, Satoh M. Molecular biology of the opioid receptors: structures, functions and distributions. *Neurosci Res* 1995; 23: 121-45.
7. Nyberg F, Terenius L. Enzymatic inactivation of neuropeptides. In: Henriksen JH, ed. Degradation of bioactive substances: phys-

Medicinsk kommentar är Läkartidningens forum för signerade medicinska ledare. Merparten av dessa är beställda av redaktionen, och vi välkomnar förslag om aktuella frågor som bör tas upp i denna form. Vi vill där även fånga in och belysa aktuella medicinska rön presenterade annorstädes.

Finns något i din specialitet att kommentera? Ta kontakt med redaktionen innan du börjar skriva för att undvika dubbelarbete!



- iology and pathophysiology. New York: CRC Press, 1991: 189-200.
8. Renlund S, Erlandsson I, Hellman U, Silberring J, Lindström LH, Nyberg F. Micro-purification and amino acid sequence of  $\beta$ -casomorphin-8 in milk from a woman with postpartum psychosis. *Peptides* 1993; 14: 1125-32.
  9. Glämsta EL, Marklund Hellman U, Wernstedt C, Terenius L, Nyberg F. Isolation and characterization of a hemoglobin-derived opioid peptide from the human pituitary. *Regul Pept* 1991; 34: 169-79.
  10. Chang KJ, Killian A, Hazum E, Cuatrecasas P, Cang JK. Morphiceptin (H-Tyr-Pro-Phe-Pro-NH<sub>2</sub>): a potent specific agonist for morphine ( $\mu$ ) receptors. *Science* 1981; 212: 603-5.
  11. Horvath A, Kastin AJ. Isolation of tyrosine-melanocyte-stimulating hormone release-inhibiting factor I from bovine brain tissue. *J Biol Chem* 1989; 264: 2175-9.
  12. Ercheryi I, Kastin AJ, Zadina JE. Isolation of a novel tetrapeptide with opiate and anti-opiate activity from human cortex: Tyr-Pro-Trp-Gly-NH<sub>2</sub> (Tyr-W-MIF-I). *Peptides* 1992; 13: 623-31.
  13. Zadina JE, Hackler L, Ge LJ, Kastin AJ. A potent and selective endogenous agonist for the  $\mu$ -opiate receptor. *Nature* 1997; 386: 499-502.
  14. Lantz I, Glämsta EL, Talbäck L, Nyberg F. Hemorphins derived from hemoglobin have an inhibitory action on angiotensin converting enzyme activity. *FEBS Lett* 1991; 287: 39-41.
  15. Frederickson RCA, Chipkin RE. Endogenous opioids and pain: status of human studies and new treatment concepts. In: Fields HL, Besson JM, eds. *Prog Brain Res* 1988; 407-17.

## Antibiotika vid akut otit prövosten i resistensdebatt

Den allmänna rekommendationen i Sverige bör vara att akut otitis media skall antibiotikabehandlas, i första hand med penicillin V, konkluderar Karin Prellner, Otto Cars och Sigvard Mölstedt i Information från Läkemiddelsverket 4:97.

Artikeln är ett auktoritativt inlägg i den debatt om bruket av antibiotika som utlösts av ökande problem med resistens bland mikroorganismer. Flera studier har antytt att otit kan behandlas framgångsrikt utan antibiotika som rutin, och att detta leder till minskad frekvens av resistens. Föreskrivning av antibiotika vid vanliga och ofta självläkande tillstånd som ont i halsen leder dessutom till medikalisering, dvs nästa gång patienten får symtom är det naturligt att tidigt gå till läkare för att få antibiotika (se t ex *BMJ* 1997; 315: 350-2).

### Magert vetenskapligt underlag

Randomiserade dubbelblindstudier ger endast svaga indicier för att rutinbruk av antibiotika vid akut otit minskar symtomens duration och svårighetsgrad eller risken för komplikationer. 80 procent av barn med akut otit blir friska utan antibiotika, och man vet inte om det bland resten finns några som har nytta av denna terapi. Det hävdar författarna till en översikt i *BMJ* (1997; 315: 98-102). De råder kliniker att överväga enbart analgetikabehandling och uppföljning – särskilt barn under 2 års ålder måste kontrolleras ofta.

### Daghem riskfaktor

För att förebygga otit bland barn bör man propagera för amning och undvikande av tobaksrök. Barn på daghem är särskilt utsatta, och både barnen och personalen där bör därför träffa händerna ofta och vara noggranna med rengöringen. Mer än 70 procent av fallen av akut otit föregås av virusinfektioner, och det finns övertygande bevis för att smittan oftare sprids via händer och ytor än genom luften.

### Väg in fler faktorer

Den refererade artikeln har balanse-rats i en ledare i *BMJ* (1997; 315: 321-2). Författarna pekar på att de uppföl-

jande studier som gjorts varit för små för att ge besked om risken för mastoidit och meningit. Brittiska allmänläkare kommer nog att fortsätta skriva ut antibiotika till barn med akut otitis media – men det finns skäl att avstå när diagnosen är osäker eller barnet inte är särskilt sjukt.

En metaanalys tyder emellertid på att antibiotika gör fler barn smärtfria första veckan samt att risken för kontralateral otit och kanske också för perforering av trumhinnan minskar, påpekar ledarskribenterna. Kanske förkortas också barnets frånvaro från daghem och skola och föräldrarnas frånvaro från arbetet.

### Diagnostiken central

Varför är synen på antibiotika vid otit så varierande?

En förklaring kan förstås vara att öron- och infektionsspecialisterna, som formulerat praxis, ofta ser de svåraste otitfallen och komplikationerna, medan allmänläkarnas panorama domineras av de lindriga och oftast självläkande infektionerna. Samtidigt kan tidspressen i primärvård främja föreskrivning i stället för tidskrävande information och uppföljning.

Diagnostiken är en central fråga. Karin Prellner och medarbetare pekar på att en del studier i Nederländerna och USA inte tycks ha tillämpat de strikta kriterierna, t ex att akut otitis media är en bakteriell purulent infektion och att trumhinnan inte är rörlig. Både i studierna och i praxis kan patienter med »skrikröda trumhinnor, sekretoriska otiter och simplexotiter» ha behandlats som om det gällt akut otitis media. Otoskopi krävs för riktig diagnos, och öronmikroskop underlättar bedömningen.

### Ansvar för uppföljning

Slutligen har olika åldersgrupper inkluderats i de olika studierna. Vid akut otit hos barn över två års ålder är spontanläkning vanlig, och flera av studierna har inkluderat barn upp till 10-12 års ålder. Frekvensen spontanläkning varierar också beroende på infektionsagens, men det är omöjligt att på förhand avgöra vilka patienter som behöver antibiotika för att läka ut infektionen. Den läkare som avstår från antibiotika tar på sig ett särskilt ansvar för att patientens tillstånd följs upp.

Yngve Karlsson

redaktör

Läkartidningens medicinska redaktion