



Smerteforskning, chilli con carne og floureserende stoffer

Nielsen, Christian Kamp; Sheykhzade, Majid; Heegaard, Anne-Marie; Bjerrum, Ole Jannik

Published in:
Lægemedelforskning

Publication date:
2007

Citation for published version (APA):
Nielsen, C. K., Sheykhzade, M., Heegaard, A-M., & Bjerrum, O. J. (2007). Smerteforskning, chilli con carne og floureserende stoffer. *Lægemedelforskning*, 26-27.

Smerteforskning, chili con carne og fluorescerende stoffer

Kroniske nervesmerter kan i dag ikke afhjælpes i tilstrækkelig grad. Ved hjælp af fluorescerende markører forsøger vi at kortlægge og farmakologisk karakterisere de cellulære mekanismer bag neuropatiske smerter. Målet er udvikling af nye lægemidler, som kan forbedre behandlingen.

Af Christian Kamp Nielsen, Majid Sheykhzade, Anne-Marie Heegaard og Ole Jannik Bjerrum

Hvis du stikker dig på en nål eller får en let forbrænding ved at røre ved et varmt strygejern, vil du øjeblikkeligt føle smerte. Formålet med smertereaktionen er, at du fjerner hånden fra strygejernet, så du reducerer skadens omfang, og samtidig lærer, at varme strygejern kan være farlige, og derfor ikke placerer hånden dér igen. Den slags akutte smerter forsvinder, når skaden er helet, og vil blot efterlade dig en erfaring rigere.

Når smerter varer over seks måneder, betegnes de som kro-

niske, og når smerterne skyldes en direkte skade på nervevævet, kaldes de neuropatiske smerter. Skader på nervevævet kan opstå i forbindelse med kræft, diabetes og kronisk betændelse samt ved ulykker eller operationer; fx efter amputationer. Kroniske neuropatiske smerter varer livet ud og synes ikke at tjene noget formål.

Ingen effektiv behandling

I dag behandles kroniske neuropatiske smerter med gabapentin, med opioider som morfin, eller med stoffer, der hæmmer betændelse såsom ibuprofen eller carprofen. Lægemidlerne kan give varierende bivirkninger afhængig af den indtagne dosis, som ofte er høj hos kroniske smertepatienter. Dosis øges, så længe den smertedæmpende effekt overskygger ubehaget ved de opståede bivirkninger. Ingen af nutidens behandlinger dæmper nervesmerter tilstrækkeligt effektivt, og derfor tvinges mange patienter til at leve med en større eller mindre grad af konstante smerter med alt, hvad det indebærer: Dårlig nattesøvn, depression, reduceret evne til at deltage i sociale aktiviteter og nedsat evne til at passe et almindeligt job – alt i alt en stærkt forringet livskvalitet.

Manglen på effektiv behandling af kroniske neuropatiske smerter belaster også samfundet, fordi smertepatienterne ikke er til rådighed for arbejdsmarkedet. Der er således mange gode grunde til at bedrive smerteforskning.

Cellulært puslespil

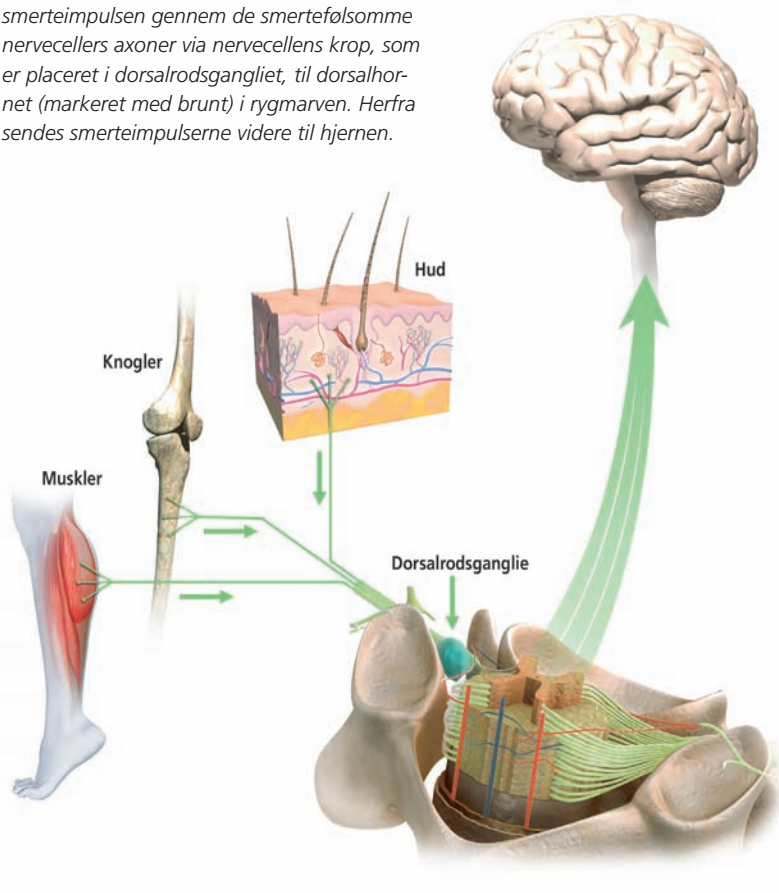
På trods af en stor forskningsindsats kender vi langt fra alle de cellulære mekanismer bag smerters opståen og udvikling, og derfor er det svært at udvikle nye smertelindrende lægemidler.

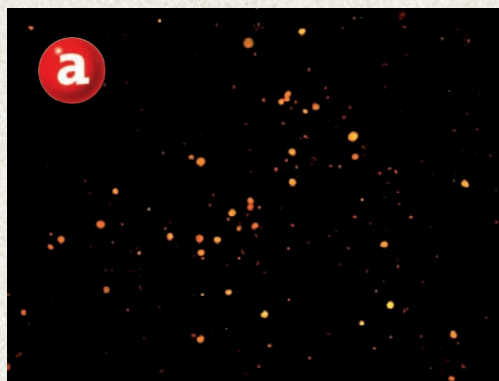
Forskningen i neuropatiske smerter er som at lægge et uhyre kompliceret puslespil med mange brikker af ukendt form og antal. Som én brik i dette store puslespil forsker vi i de cellulære mekanismer, som finder sted i dorsalrodsgangliet ved rygmarven ved neuropatiske smerter. Når en patient har smerter i fx benet, løber smerteimpulsen gennem de smertefølsomme nervecellers axoner via nervecellens krop, som er placeret i dorsalrodsgangliet, til dorsalthornet i rygmarven. Dorsalthornet er en ophobning af mørkere nerveceller, som kan ses på et tværsnit af rygmarven. Fra dorsalthornet sendes smerteimpulserne videre til hjernen, hvorved smerten registreres.

Stærk chili

Et centralt problem ved smerteforskning er, at smerter ikke kan ses, og her kommer chili con carne ind i billedet. Alle, som har smagt chili con carne eller en anden ret tilberedt med chili, vil genkende dette krydderis effekt i form af varme, der kan give svedperlerne på panden og en brændende fornemmelse i munden.

Når en patient har smerter i fx benet, løber smerteimpulsen gennem de smertefølsomme nervecellers axoner via nervecellens krop, som er placeret i dorsalrodsgangliet, til dorsalthornet (markeret med brunt) i rygmarven. Herfra sendes smerteimpulserne videre til hjernen.





Når celler fra dorsalrodgangliet stimuleres med et smertefremkaldende stof fra chili, capsaicin, strømmer calcium-ioner ind i cellerne. Calciumresponset kan anvendes som et mål for intensiteten af smerte. Responset undersøges ved at inkubere cellerne med et calciumfølsomt farvestof, som udsender fluorescerende lys, når det exciteres ved bestemte bølgelængder. Mikroskopibillederne viser calciumresponderende celler før **a** og efter **b** tilsætning af capsaicin.

Et af de aktive stoffer i chili hedder capsaicin, og hvis man tilsætter capsaicin i ren form til en portion chili con carne, vil den lækre ret ændre sig fra at være lifligt krydret til at fremkalde intense smerter. Vi opfatter altså effekten af capsaicin som meget varm og ved tilstrækkeligt høje koncentrationer som meget smertefuld. Det er fordi, effekten af capsaicin formidles via samme receptor som ved forbrænding.

Smerte signaleres gennem nervesystemet via elektriske impulser, og en central parameter for udbredelsen af elektriske impulser til hjernen er cellernes calciumkoncentration. Når vi stimulerer celler med capsaicin, fremkaldes et calciumrespons, hvor calciumioner strømmer ind i cellerne, som derefter regulerer calciumniveauet tilbage til hvilekoncentrationen.

Calciumresponset kan undersøges i cellekulturer ved at inkubere cellerne med et calciumfølsomt farvestof, som kan trænge ind i cellerne, og som udsender et fluorescerende lys, når stoffet exciteres med lys ved bestemte bølgelængder. Vi kan så celler fra dorsalrodganglier ud på et dækglas, inkubere dem med vores calciumfølsomme farvestof og derefter stimulere dem med capsaicin.

Effekten af capsaicin kan følges under et mikroskop, fordi celler, som reagerer på det smertefremkaldende stof, lyser op på grund af calciumindstrømningen. Vi kan således direkte registrere intensiteten af en smertefuld stimulering ved at iagttage effekten af forskellige koncentrationer af capsaicin på cellernes calciumkoncentration. På den baggrund kan vi udarbejde en dosis-respons kurve.

Smerternes udbredelse

Dorsalrodganglierne indeholder foruden neuronerne også en række andre celletyper såsom stjerneformede astrocytter, mikroglia-celler og schwanske celler, hvoraf de sidstnævnte er involveret i dannelsen af de myelinskeder, som omslutter de hurtigst ledende nerveceller.

For nærmere at kunne undersøge udbredelsen af smerter er vi interesseret i at fastslå, hvilke celletyper i dorsalrodgangliet som reagerer på stimuleringen med capsaicin. Til dette formål benytter vi os af antistoffer.

Antistoffer dannes ved, at en specifik del af det protein som antistofferne skal binde sig til, sprøjtes ind i eksempelvis en kanin. Kaninens immunforsvar vil opfatte proteinfragmentet som fremmed på linie med protein fra forkølelsesvirus og danne antistoffer imod det. Antistofferne kan derpå opnåes fra kaninens blod og anvendes i forskningen.

Receptorerne for capsaicin – varmereceptorerne – er blevet identificeret, og der er blevet produceret antistoffer imod dem. Til forsøgene anvender vi antistoffer, som er koblet til

et fluorescerende molekyle, og som enten specifikt binder sig til capsaicinreceptorerne, eller genkender proteiner, som kun udtrykkes i eksempelvis neuroner. Med disse antistoffer kan vi mærke celler isoleret fra dorsalrodganglierne, observere dem under mikroskop og identificere de typer af celler, som reagerer på capsaicin.

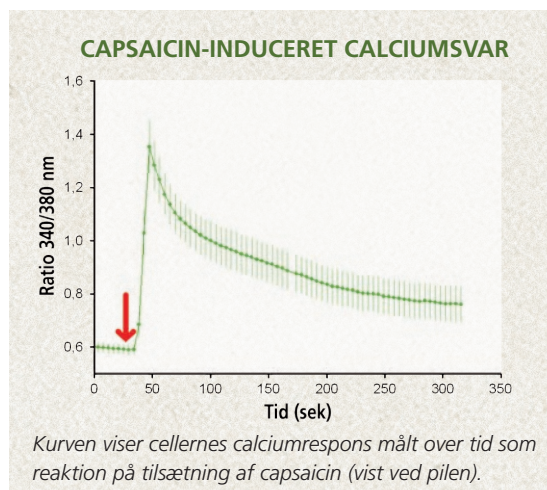
Når vi kombinerer brugen af det calciumfølsomme farvestof med fluorescerende antistoffer, kan vi både måle intensiteten af smerten og detektere de enkelte celler, som er involveret i udbredelsen af den.

Dyremodeller

Da en lang række smertemediatorer inducerer et calciumrespons på linje med capsaicin, kan vi anvende de beskrevne metoder til at undersøge smerter forårsaget af andet end capsaicin.

Forskningen i neuropatiske smerter er i høj grad baseret på dyremodeller, primært rotter og mus, hvori neuropatiske smerter induceres ved operation eller ved farmakologisk behandling af dyret. Ligeledes undersøger vi, om genmodificerede dyr, hvori et specifikt protein er fjernet, har en ændret smerteoplevelse end tilsvarende almindelige dyr. De smerter, som dyrene oplever, bliver undersøgt ved observation af deres adfærd og via en række tests, som kan belyse deres følsomhed over for forskellige fysiske stimuli.

Ved at anvende fluorescensbaserede metoder i kombination med dyremodeller vil vi være i stand til at føje flere brikker til smerteforskningens komplicerede puslespil. I sidste ende vil forskningen føre til fremstilling af nye lægemidler og udvikling af bedre behandlingstilbud til patienter med kroniske neuropatiske smerter.



Ph.d. Christian Kamp Nielsen er postdoc ved Institut for Farmakologi og Farmakoterapi.

Ph.d. Majid Sheykhzade er lektor ved Institut for Farmakologi og Farmakoterapi.

Ph.d. Anne-Marie Heegaard er lektor ved Institut for Farmakologi og Farmakoterapi.

Dr.med. Ole Jannik Bjerrum er professor ved Institut for Farmakologi og Farmakoterapi.