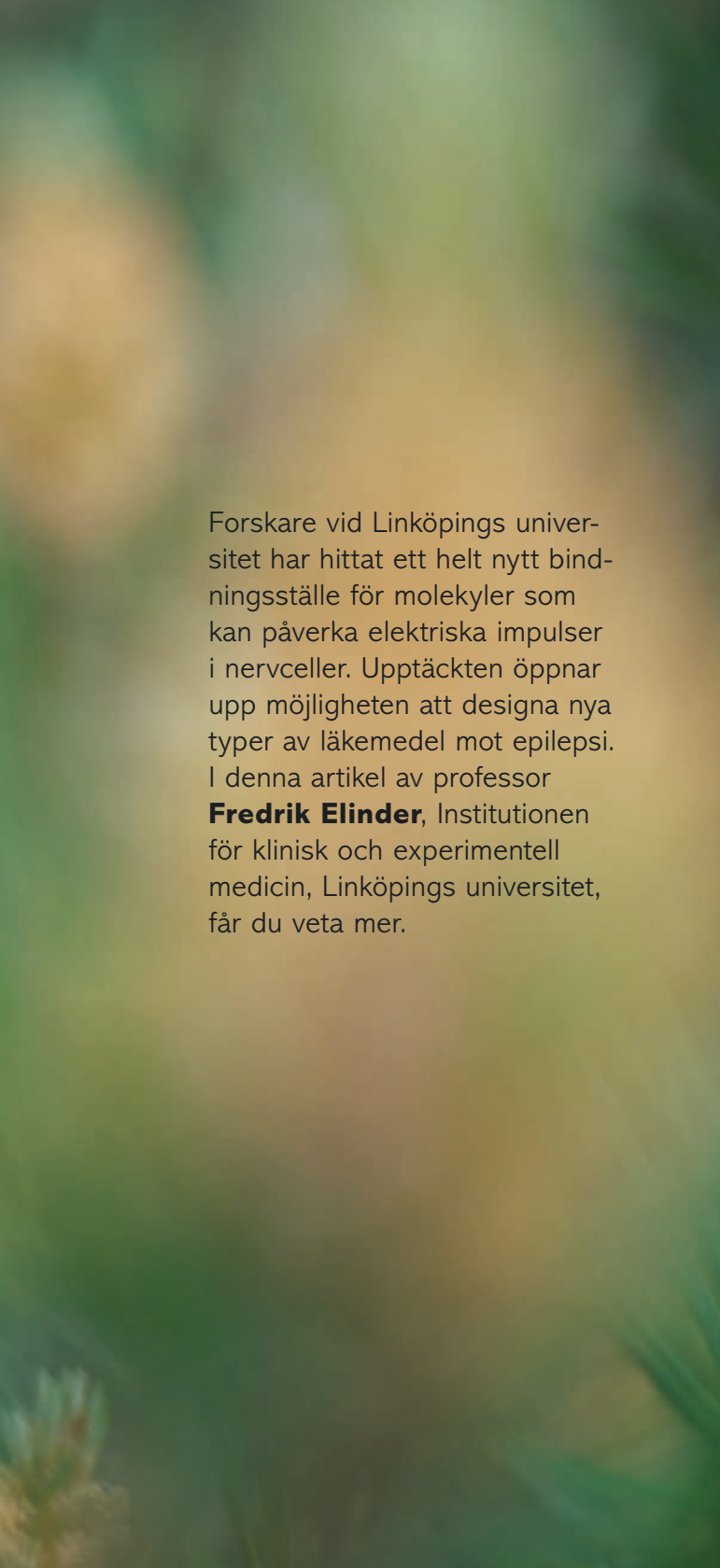




Fettgillande molekyler –





Forskare vid Linköpings universitet har hittat ett helt nytt bindningsställe för molekyler som kan påverka elektriska impulser i nervceller. Upptäckten öppnar upp möjligheten att designa nya typer av läkemedel mot epilepsi. I denna artikel av professor **Fredrik Elinder**, Institutionen för klinisk och experimentell medicin, Linköpings universitet, får du veta mer.

Epilepsi beror på förhöjd och okontrollerad elektrisk aktivitet i hjärnan. Anledningen till detta kan vara medfödda eller förvärvade skador på hjärnan, och epileptiska anfall kan utlösas av infektioner, extrem trötthet eller förändringar i kroppsvätskornas sammansättning. Epilepsi kan även bero på ärftliga förändringar där de minsta byggstenarna för hjärnans elektriska retbarhet, de så kallade jonkanalerna, är ombyggda. Epilepsi drabbar 0,7 procent av alla i Sverige. Tyvärr är det många av dagens patienter, omkring en tredjedel, som får bristfällig behandling; antingen fungerar inte behandlingen eller så ger den besvärliga biverkningar. Det finns alltså ett stort behov av bättre behandlingar mot epilepsi.

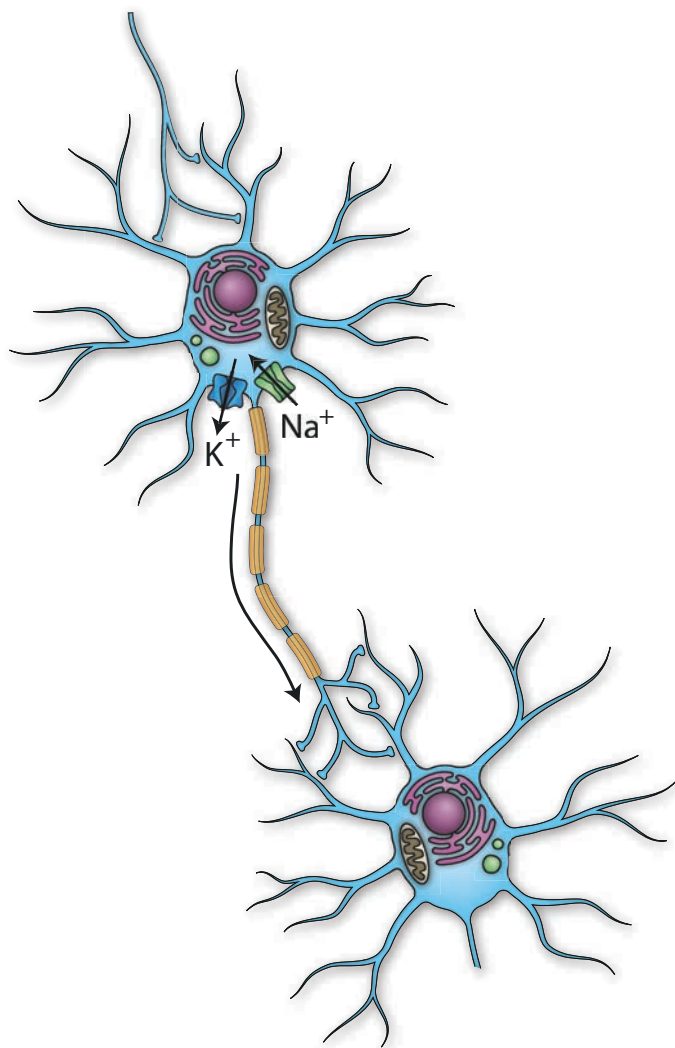
Eftersom läkemedel mot hjärnans sjukdomar har varit notoriskt svåra att utveckla har stora delar av läkemedelsindustrin lämnat epilepsiområdet, vilket lagt ett större ansvar på akademiska grupper att försöka hitta nya lösningar. Min forskargrupp har under flera år fokuserat på att försöka utveckla bättre läkemedel än de befintliga. Vi har sökt nya behandlingsstrategier och nya typer av läkemedelskandidater.

ELEKTRISK RETBARHET I HJÄRNAN

Hjärnans elektriska aktivitet beror på att hjärnans nervceller fungerar som små batterier där insidan är negativt laddad och utsidan positivt laddad. Den elektriska spänningen kan ändra polaritet på mindre än en tusendels sekund. Denna förändring i elektrisk spänning kan fortledas med hastigheter på upp till 200 km/tim (Figur 1). En nervcell frisätter transmittorsubstanser som med stor precision duschas över en intilliggande nervcell. Den kemiska signalen omvandlas i nervcellkroppen till en elektrisk signal som fortleds till slutet av det långa utskottet, axonet, där sedan transmittorsubstanser igen duschas över nästa nervcell. Fel kan uppkomma var som helst längs hela kedjan, och kan leda till förändrad signalering och eventuellt till epileptiska anfall. Läkemedel kan också verka längs hela kedjan. Vår forskning fokuserar på hur den elektriska retbarheten uppkommer och kan regleras.



*kan de bli nya läkemedel
mot **epilepsi**?*



Figur 1. Nervceller leder elektriska signaler med hastigheter på upp till 200 km/tim. Nervcellkroppen (den stjärnformade strukturen överst i bild) fångar upp elektriska signaler från intilliggande nervceller via synapserna (kontaktpunkterna mellan cellerna). En kemisk signal (transmittorsubstans) i synapsen överför budskapet till dendritträdets (de korta utskotten från cellkroppen) där det omvandlas till en elektrisk signal. Den elektriska signalen genereras och underhålls av att natriumjoner passerar in i cellen genom natriumkanaler och att kaliumjoner passerar ut från cellen genom kaliumkanaler. Den elektriska signalen fortleds längs det långa utskottet (axonet) till nervändslutet, tack vare jonströmmar genom natrium- och kaliumkanaler som finns längs hela axonet i mellanrummen mellan isoleringen (myelinet). Vid nervändslutet frisätts transmittorsubstanser som stimulerar nästa cell. Notera att figuren är schematisk och inte skalenlig. Illustration: Jakob Renhorn.

SPÄNNINGSAKTIVERADE JONKANALER SPELAR EN CENTRAL ROLL FÖR HJÄRNANS ELEKTRISKA AKTIVITET

Anledningen till att nervcellerna snabbt kan ändra elektrisk spänning är att små hål i nervcellmembranet, så kallade jonkanaler, öppnas och släpper igenom specifika joner, vanligtvis natriumjoner och kaliumjoner. Natriumjonerna passerar

nervcellmembranet genom specifika natriumkanaler och kaliumjonerna passerar genom specifika kaliumkanaler (Figur 1). I en vilande nervcell är insidan negativt laddad relativt utsidan, och jonkanalerna är stängda. När en nervcell aktiveras av grannnervcellen (Figur 1) blir insidan positivt laddad. Detta sker genom att de snabba natriumkanalerna öppnas och släpper in positivt laddade natriumjoner i nervcellen. Nervcellen är nu aktiv och en mycket snabb signal skickas längs axonet. Kaliumkanalerna fungerar på samma sätt men de är betydligt långsammare (Figur 2). När insidan blir positivt laddad (1) förskjuts kanalens spänningskänsliga del mot cellens utsida. Detta leder till att (2) kanalens port öppnas, varmed (3) positivt laddade kaliumjoner slipper ut ur cellen. I motsats till natriumkanalerna leder detta till att nervcellens insida åter blir negativt laddad. Enkelt sagt: Natriumkanalerna är nervcellernas gas och kaliumkanalerna deras broms.

”Enkelt sagt: Natriumkanalerna är nervcellernas gas och kaliumkanalerna deras broms.”

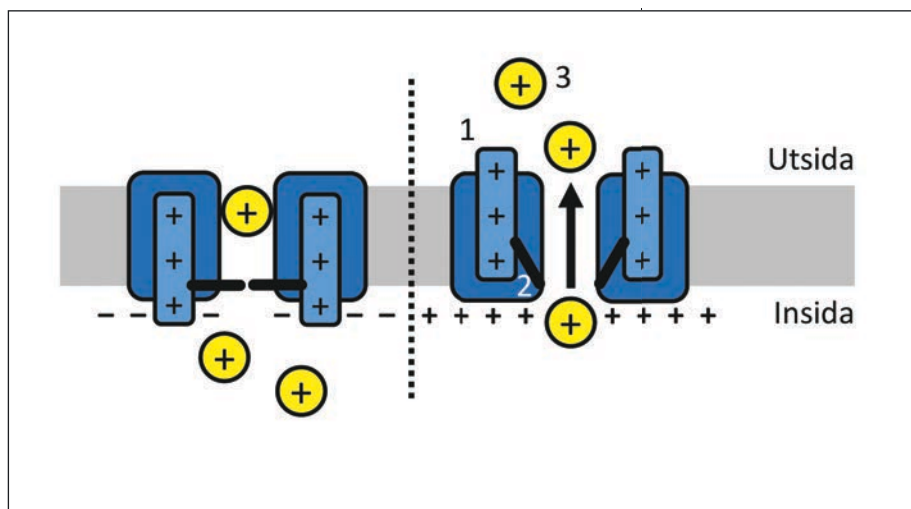
STRATEGIER ATT BEHANDLA EPILEPSI

Det vanligaste sättet att behandla epilepsi är att blockera natriumkanalerna, och därmed minska gasen. Det har dock varit svårt att utveckla läkemedel som blockerar specifika natriumkanaler; människan har nio olika spänningsaktiverade natriumkanaler och om vi blockerar fel natriumkanaler kan det leda till bristfällig effekt eller biverkningar. Ett annat problem är att läkemedlet inte får blockera natriumkanalerna fullständigt eftersom den elektriska aktiviteten då släcks totalt. Läkemedlen har alltså ett relativt snävt terapeutiskt intervall – för låg läkemedelskoncentration ger ingen effekt medan för hög koncentration ger biverkningar.

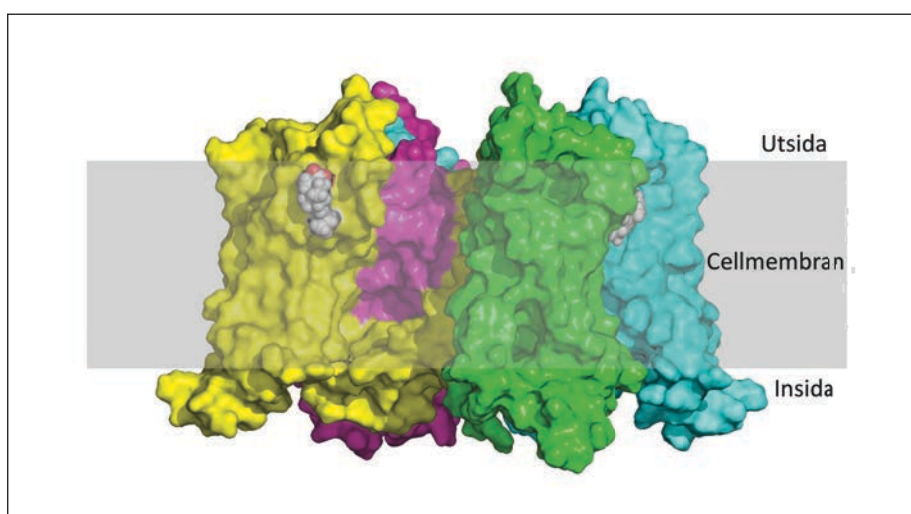
Ett alternativ är istället att öka nervcellernas broms, det vill säga att öppna kaliumkanaler. Ett exempel på kaliumkanalöppnande läkemedel mot epilepsi är retigabin, som öppnar kaliumkanaler genom att binda till kanalens port och hålla den öppen. Retigabin har varit godkänt för epilepsibehandling i USA, men drogs nyligen in på grund av besvärliga biverkningar. Problemet var att retigabin öppnar flera olika kaliumkanaler, varav en del gav upphov till biverkningar. En ny möjlig läkemedelsbehandling av epilepsi vore om vi kunde hitta andra läkemedelsliknande substanser som öppnar specifika kaliumkanaler som är kritiska för epilepsi.

ALTERNATIVA BEHANDLINGAR

I vårt arbete att utveckla nya läkemedel har vi hämtat inspiration från behandling av epilepsi med den så kallade ketogena kosten. Behandlingen är känd sedan 1920-talet men föll i glömska och fick sedan ett uppsving på 1990-talet och används med framgång på en del barn med epilepsi. Kostens verkningsmekanism är okänd men vi vet att sammansätt-



Figur 2. Kaliumkanaler är känsliga för nervcellens elektriska spänning. En spänningsaktiverad kaliumkanal är stängd när nervcellens insida är negativt laddad (vänster), och den öppnas när cellens insida blir positivt laddad (höger). Den positiva spänningssensorn (1) förskjuts mot utsidan vilket leder till att kanalens port (2) öppnas varmed kaliumjoner (3) kan röra sig ut från nervcellen. Öppning av kaliumkanaler minskar eller stänger helt av nervcellens elektriska aktivitet.



Figur 3. Hartssyror binder till kaliumkanalen i cellmembranet. Kaliumkanaler är uppbyggda av fyra likadana delar (fyra olika färger). En hartssyramolekyl (grårött konglomerat av atomer) binder fast till varje kanaldel. Till skillnad från tidigare läkemedel mot epilepsi, som binder mitt i kanalen från nervcellens insida, binder hartssyramolekylerna i kaliumkanalens ytterkanter, i direkt anslutning till cellmembranet. Från referens 8.

ningen av den vätska som omger hjärnan, ryggmärgsvätskan, förändras, så att bland annat mängden fleromättade fettsyror ökar flerfaldigt. De fleromättade fettsyrorna har många olika biologiska effekter; bland annat påverkas de flesta spänningsaktiverade jonkanaler.¹ Vi har kunnat visa att fleromättade fettsyror öppnar olika spänningsaktiverade kaliumkanaler via en specifik, tidigare ej beskriven, mekanism, och att de därigenom kan minska den elektriska retbarheten i olika celltyper.^{2,5}

Det speciella med dessa fettsyror är att de är relativt fettlösliga varför de binder till cellmembranets lipofila, fettgillande, delar istället för att binda direkt till jonkanalerna. Eftersom en fettsyra är elektriskt laddad utövar den, från sin position i cellmembranet, en elektrisk effekt på jonkanalen; fettsyran drar spänningssensorn (1 i Figur 2) uppåt och öppnar kanalens port (2 i Figur 2) så att kaliumjoner kan åka ut ur nervcellen (3 i Figur 2) och bromsa den elektriska aktiviteten. Det problem vi insåg med fettsyrorna var att det kunde bli svårigheter med specificiteten; fettsyrorna påverkar en mängd olika cellulära strukturer och processer. Därför har vi försökt hitta läkemedelsliknande molekyler som är både fettlösliga och elektriskt laddade, och förhoppningsvis även selektiva för vissa kaliumkanaler.

"I vårt arbete att utveckla nya läkemedel har vi hämtat inspiration från behandling av epilepsi med den så kallade ketogena kosten."

HARTSSYROR FRÅN TALLKÅDA – MÖJLIGA LÄKEMEDELSKANDIDATER

Efter lite letande i litteraturen, lite intuition och lite tur upptäckte vi att så kallade hartssyror från tallkåda har liknande effekt på kaliumkanalerna som de fleromättade fettsyrorna och att verkningsmekanismen verkar vara densamma.⁶ För att kunna förbättra effekten och öka specificiteten hos de naturligt förekommande molekylerna modifierade vi den kemiska strukturen på flera olika hartssyror. Genom att systematiskt förändra molekylen struktur kunde vi stegvis leta oss fram till mer och mer potenta substanser.⁷ Flera av de bästa substanserna har även en dämpande effekt på den elektriska retbarheten i isolerade nervceller. I preliminära för-

sök i etablerade epilepsimodeller (hjärnvävnad eller heldjurs-försök) har några av våra substanser även visat sig ha dämpande effekt på nervcellsaktivitet.

”Detta är första gången som det visats att själva cellmembranet kan användas som en betydelsefull bindningsyta för läkemedelsliknande molekyler.”

HARTSSYRORNA BINDER TILL EN SPECIFIK FICKA PÅ KALIUMKANALENS YTTERSIDA

För att bättre förstå hur hartssyrorna fungerar och för att kunna designa bättre substanser har vi nyligen kartlagt bindningsstället på en kaliumkanal.⁸ Med hjälp av funktionella elektrofysiologiska studier och en kombination av molekylärbiologi, synteskemi samt datorsimuleringar lyckades vi identifiera ett bindningsställe precis i gränsskiktet mellan jonkanalen och lipidlagret (Figur 3). Detta är första gången som det visats att själva cellmembranet kan användas som en betydelsefull bindningsyta för läkemedelsliknande molekyler. Tidigare har gifter från spindlar och pilgiftsgröddor visats fungera på snarlika sätt, men aldrig läkemedelsliknande molekyler. Vår förhoppning nu är att det identifierade stället skall kunna användas för att designa ännu mer specifika och potenta kaliumkanalmodulerare, som sedan kan utvecklas till läkemedel mot epilepsi.



För att kunna förverkliga våra ambitioner att få fram ett nytt läkemedel mot epilepsi startade vi Moltic Pharma AB under 2017, men än är resan lång mot nya bättre läkemedel mot epilepsi.

Forskningen har stötts ekonomisk av Vetenskapsrådet och Hjärnfonden. Kommersialiseringsarbetet har stötts av LiU Innovation.



FREDRIK ELINDER

Professor, Institutionen för klinisk och experimentell medicin, Linköpings universitet
fredrik.elinder@liu.se

REFERENSER

1. Elinder F & Liin S. Actions and mechanisms of polyunsaturated fatty acids on voltage-gated ion channels. *Front Physiol* 2017; 8:43
2. Xu X-p, Erichsen D, Börjesson SI, Dahlin M, Åmark P & Elinder F. Polyunsaturated fatty acids and cerebrospinal fluid from children on the ketogenic diet open a voltage-gated K channel: A putative mechanism of antiseizure action. *Epilepsy Res* 2008; 80:57-66
3. Börjesson SI & Elinder F. An electrostatic potassium channel opener targeting the final voltage sensor transition. *J Gen Physiol* 2011; 137:563-577
4. Liin SI, Silverå Ejneby M, Barro-Soria R, Skarsfeldt MA, Larsson JE, Starck Härlin F, Parkkari T, Bentzen BH, Schmitt N, Larsson HP & Elinder F. Polyunsaturated fatty acid analogs act antiarrhythmically on the cardiac IKs channel. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015; 112:5714-5719
5. Liin SI, Karlsson U, Bentzen BH, Schmitt N & Elinder F. Polyunsaturated fatty acids are potent openers of human M channels expressed in *Xenopus laevis* oocytes. *Acta Physiologica* 2016; 218:28-37
6. Ottosson NE, Liin SI & Elinder F. Drug-induced ion channel opening tuned by the voltage sensor charge profile. *J Gen Physiol* 2014; 143:173-182
7. Ottosson NE, Wu X, Nolting A, Karlsson U, Lund P-E, Ruda K, Svensson S, Konradsson P & Elinder F. Resin-acid derivatives as potent electrostatic openers of voltage-gated K channels and suppressors of neuronal excitability. *Sci Rep* 2015; 5:13278
8. Ottosson NE, Silverå Ejneby M, Wu X, Yazdi S, Konradsson P, Lindahl E & Elinder F. A drug pocket at the lipid bilayer-potassium channel interface. *Sci Adv* 2017; 3:e1701099