



UPPSALA
UNIVERSITET

Paracetamol och dess smärtlindrande verkningsmekanism/er

Linda Kjernsmo

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2016
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Paracetamol och dess smärtlindrande verkningsmekanism/er

Linda Kjærnsmo

Självständigt arbete i biologi 2016

Sammandrag

Paracetamol är en läkemedelssubstans som använts under en lång tid världen över. Den är mycket populär för sin smärtstillande och febernedsättande effekt och är för många ett förstahandsval. Den är dessutom skonsam mot organ i kroppen i jämförelse med andra läkemedel som kan bidra till förurning i magen, exempelvis som acetylsalicylsyra som finns i Treo. Än idag tvistar många forskare inom ämnet om hur paracetamol faktiskt utför sin smärtstillande verkan. Det finns ett flertal forskare i fältet som gång på gång presenterar olika hypoteser. Därför har syftet med denna litteraturstudie varit att ta reda på några av vilka hypoteser som finns kring paracetamols verkningsmekanism samt att ta reda på hur de har prövats. Under arbetets gång upptäcktes att ett stort antal hypoteser finns presenterade och att endast en del av dessa kan framlyftas i denna litteraturstudie. Hypoteserna som presenteras i litteraturstudien valdes efter att de framlyfts i tidigare farmakologikurser och ansågs därför vara av centralt värde gällande paracetamols verkningsmekanism/er. De hypoteser som lyfts fram i denna litteraturstudie är 1) COX-3 (cyklooxygenas 3)-hypotesen, 2) serotoninhypotesen, 3) hypotesen om en förstärkning av det endocannabinoida systemet, 4) hypotesen om en koppling mellan det endocannabinoida systemet och serotoninssystemet och 5) TRPA1 (transient receptor potential, av typ A1)-hypotesen. COX-3-hypotesen bygger på teorin om att paracetamol hämmar ett tredje cyklooxygenasenzym som finns beläget i hjärnbarken och hjärtat hos människa. Att inhibering av COX-enzym ger upphov till smärtstillande effekter har varit känt sedan tidigare. Den smärtstillande effekten av dessa enzym beror på att de vanligen katalyserar bildningen av prostaglandiner. Katalysen av prostaglandinbildningen är inte i sig vad som bidrar till smärta men prostaglandiner ökar andra substansers förmåga att orsaka smärta (som exempelvis serotonin och bradykinin). I studier där paracetamols inhibering av de tre olika COX-enzymerna 1,2&3 testats verkar COX-3 vara enzymet som hämmas i störst utsträckning. Serotoninhypotesen utgår från att paracetamol utför sin verkan i det serotonerga systemet. För att studera detta tillsattes serotoninantagonister som enligt studien bidrog till en minskning av paracetamols smärtstillande effekt. Vilket föreslår att det serotonerga systemet spelar en nyckelroll i smärtlindring av paracetamol. Hypotesen om en förstärkning av det endocannabinoida systemet underbyggs av följande: en endogen (kroppsegen) ligand, en anandamid binder till till CB1-receptorn (cannabinoid receptor 1) och uppvisar då smärtlindrande effekt. Paracetamols metabolit har förmågan att inhibera substansen som metaboliserar anandamid, vilket leder till ökad ackumulerad mängd anandamid som kan inducera smärtlindring. Paracetamol uppvisar dessutom aktiverande egenskaper på CB1-receptorn precis som många endogena cannabinoider. Denna effekt inhiberades enligt studien av selektiva CB1-antagonister. Hypotesen om att det endocannabinoida systemet och det serotonerga systemet skulle vara sammankopplat baserades på att studier visade att både CB1-agonister och paracetamols smärtstillande effekter minskade när ett neurotoxin användes för att skada de serotonerga vägarna mellan hjärna och ryggmärg (genom att minska antal serotoninreceptorer). TRPA1-hypotesen baseras på att paracetamol eller dess metaboliter kan verka på och aktivera TRPA1-receptorer i ryggmärgen. Beteendemässiga responser hos möss var mätvärdet som användes för att notera smärta. Signifikanta resultat noterades då dessa responser sågs långt senare hos de möss som

behandlats med paracetamol och som hade båda allelerna för TRPA1-proteinet än hos de individer som behandlats men som saknade dessa alleler.

Förkortningar: COX (cyklooxygenas), TRP (transient receptor potential), CB (cannabinoid), 5-HT (serotonin), 5-HT7R (en selektiv serotoninantagonist), 5-HT1A (serotoninreceptorantagonist), cAMP (cykliskt adenosinmonofosfat), FAAH (Fatty Acid Amide Hydrolase), ACEA (aracidonyl-2'-kloroetylamid, en CB1-receptorantagonist), NSAID (nonsteroidal antiinflammatory drugs), CYP450 (cytokrom p450), AM-251 (selektiv CB-receptorantagonist), 5,7-DHT (5,7-dihydroxytryptamin, ett neurotoxin), WAY-100.653 (serotoninreceptorantagonist), tropisetron (serotoninreceptorantagonist). *paracetamolmetaboliter:* p-AP (*p*-aminofenol), p-BQ (*p*-benzokinon), NAPQI (N-acetyl-*p*-bensokinon-imin), AM404 (N-aracidonoylaminofenol)

Inledning

Vi har idag god kunskap om verkningsmekanismer hos olika läkemedel. Detta har givit möjligheten att utveckla synonympreparat (läkemedel med samma verksamma substans som originalpreparatet) samt att utveckla mer selektivt verkande läkemedel. Det är enligt ett flertal farmakologikurser förhållandevis sällan man lanserar ett läkemedel med okänd verkningsmekanism även fast det givetvis finns exempel på sådana också. Det är även av egen fördel att ha förståelse för läkemedels verkningsmekanismer så att man själv kan bilda sig en uppfattning om vilken typ av läkemedel som är nödvändig för specifika ändamål.

Feber och smärta är något som nästan alla människor någon gång har upplevt och som väldigt många vanligen behandlar med paracetamol. Paracetamol är ett mycket populärt läkemedel som används världen över för sin smärtstillande och febernedsättande effekt. Substansens kemiska namn är N-acetyl-*para*-aminofenol. Paracetamol är även känt under namnet Acetaminophen och båda namnen är förkortningar från det kemiska namnet. Paracetamol syntetiserades första gången år 1878 av Harmon Northrop Morse men substansens användning tog fart först efter hans död. År 1887 testades paracetamol kliniskt av farmakologen Joseph von Mering (Refat *et al.* 2013). Paracetamol är fascinerande på många sätt, delvis givetvis dess smärtlindrande och febernedsättande effekt men också för att det är skonsamt mot olika organ i kroppen i jämförelse med många andra läkemedelssubstanser (acetylsalicylsyra exempelvis).

Att forskare fortfarande inte fastslagit paracetamols verkningsmekanism/er är vad författaren av denna litteraturstudie finner mest intressant. Det finns många hypoteser men inget konkret svar. Vilket egentligen är bakgrunden till de huvudsakliga frågeställningarna inför projektet.

- Vilka hypoteser finns kring paracetamols smärtstillande verkningsmekanism/er?
- Vilka hypoteser har prövats och hur har de prövats?
- Hur långt har man kommit för att besvara dessa frågeställningar?

Vad är smärta?

Smärta är ett obehag både sensoriskt och/eller emotionellt på grund av vävnadsskada eller hotande vävnadsskada. Smärta är alltså både kroppens svar på vävnadsskada eller hotande vävnadsskada *samt* känslorna som tillkommer i situationen. Man kan därför inte definiera smärta efter något mått eftersom alla individer upplever smärta olika. Känslan av smärta triggas ofta viktiga skyddande responser, så att en skada kan undvikas eller förhindras att fortskrida. Därför anses detta vara en av kroppens viktigaste försvarsmekanismer. Oftast är

smärtan överdriven i förhållande till nyttan av dessa skyddsresponser, vilket kan leda till försvagning av individen samt bestående problem så som kronisk smärta. Utvecklingen av kronisk smärta involverar förändringar i hjärna, ryggmärg och de sensoriska nerver som skickar smärtimpulsen (Rang *et al.* 2015). Det är oftast den kroniska smärtan som övergår till hyperalgesi (ökad smärtekänslighet) (Rang *et al.* 2015). Nociceptiv smärta beror på vävnadsskada som exempelvis skärsår (Rang *et al.* 2015). Neuropatisk smärta definieras av smärta orsakad av sjukdom eller skada på nervstrukturer (Rang *et al.* 2015).

Uppåtgående signaleringsvägen (Ascending pathway)

Impulsen från afferenta nervceller (inåtgående, mot det centrala nervsystemet) från perifera vävnader är vad som idag definieras smärta. Dessa nervceller reagerar på olika typer av stimuli så som temperatur samt kemiskt och mekaniskt stimuli. Vid vävnadsskada induceras frisättning av lokala substanser (exempelvis bradykinin, prostaglandiner och serotonin) som verkar på nervändar genom att antingen öka känsligheten för andra substanser eller stimuli eller genom att aktivera dem självmant (Rang *et al.* 2015). Tröskelvärdet, för vilket vi upplever smärta, varierar beroende på vilket neuron som stimuleras samt vilken typ av stimuli som initieras. Det finns två nociceptorer som kallas A δ - nociceptor (som är rika på myelin, skickar snabba och starka impulser) samt C-fibrer som saknar myelin (långsamma, medierar signaler som ger upphov till en mer diffus upplevelse av var någonstans den potentiella smärtan lokaliserar) (Rang *et al.* 2015). Dessa två nociceptorer skickar impulsen till dorsalthornet (baksidan av ryggraden). Därmed överförs alltså informationen om potentiell skada in till ryggraden. Nociceptornas impuls registreras i dorsalthornet. I dorsalthornet frisläpps ett flertal substanser, smärtmediatorer, vilka reagerar på nästa nervcell (motorneuron) som korsas i ryggraden och överför impulsen till hypothalamus i hjärnan. I somatosensoriska cortex (en del av hjärnbarken som tar emot signaler från känselreceptorer) registreras sedan informationen om den potentiella smärtan samt lokalisering av den. Detta är ett exempel på en uppåtgående reaktionsväg, från ryggmärgen till hjärnan (ascending pathway) (Rang *et al.* 2015).

Den nedåtgående smärthämmande reaktionsvägen (Descending inhibitory pathway)

Den nedåtgående reaktionsvägen, från hjärnan till ryggmärgen (även kallat det descenderande smärthämmande systemet) går nedåt och kontrollerar impulsen i dorsalthornet i ryggmärgen (Rang *et al.* 2015). Denna nedåtgående väg från en del av mitthjärnan inhiberar impulsöverföring från dorsalthornet (Rang *et al.* 2015). Efferenter (nerver från centrala nervsystemet ut till periferin) från hjärnan signalerar till förlängda märgen samt ryggmärgen att hämma smärtöverföringen (Rang *et al.* 2015). Genom användning av elektrisk stimuli på denna del av mitthjärnan kan smärta inhiberas via dessa system (Rang *et al.* 2015). Smärtinhibering initieras också av kroppsegna opioider (morfinliknande substanser), noradrenalin och serotonin som verkar på detta system (Rang *et al.* 2015). Opioider aktiverar detta system samt inhiberar smärtimpulser från perifera vävnader. Detta smärthämmande system är många gånger dessutom är mål för läkemedelssubstanser (Rang *et al.* 2015).

Cyklooxygenasenzymet och NSAID (nonsteroidal antiinflammatory drugs)

Om ett specifikt gränsvärde uppnås exempelvis när man blir klämd eller liknande upplevs som bekant sensoriskt obehag, smärta. Nociceptorer skickar därmed en impuls och signalerar då till hjärnan att vi utsatts för potentiell skada. Vissa substanser kan sänka smärttröskelvärdet så att smärta upplevs vid betydligt svagare stimuli än tidigare. När celler är skadade sänder de

ut massvis med sådana mediatorer (substanser som verkar som medlare) som stegvis gör så att vi kan känna smärta redan när vi tar på något eller något nuddar oss. Dessa mediatorer verkar därefter på lokala nervceller (Rang *et al.* 2015). Arakidonsyra är ett exempel på substans som frigörs när celler skadas eller dör (Ginburg & Kohen 1995). Två varianter av cyklooxygenasenzym, COX-1 och COX-2 katalyserar därefter omvandlingen från arakidonsyra till prostaglandiner (Chandrasekharan *et al.* 2002). Prostaglandiner kan därefter sänka smärtröskelvärdet och man drabbas då av hyperalgesi (ökad smärtkänslighet) (Pitchford & Levine 1991). Prostaglandiner i sig medför inte smärta men ökar kraftigt effekten av exempelvis serotonin och bradykinins förmåga att mediera smärta. I magsäcken har prostaglandiner dessutom en viktig roll, att skydda magslemhinnan från det sura pH-värdet. De bidrar till ett skyddande slemlager genom att öka bikarbonatutsöndringen samt frisättningen av skyddande mucin (viktigt slemämne i magsäcken) (Rang *et al.* 2015). Prostaglandiner är även viktiga inflammationsmediatorer och står för en rad olika inflammationsprocesser (Ferrari *et al.* 2013). På grund av den katalytiska förmågan av dessa COX-enzym är de dessutom målproteiner för många NSAID-preparat. Denna läkemedelsgrupp verkar inhiberande på COX-enzymerna och beroende på substans kan de antingen hämma selektivt för ett enzym eller oselektivt på båda varianterna (Chandrasekharan *et al.* 2002). Eikosanoider och därmed även prostaglandinernas kanske mest uppmärksammade effekt är vasodilatation (kärlvidgning) (Busse *et al.* 1984). Vasodilatation i hjärnan under längre tid har länge varit ett förslag på förklaringen till olika typer av smärta, så som exempelvis migrän (Wang *et al.* 2014).

Paracetamol räknas ibland in i klassen NSAID-läkemedel trots att både djurförsök och kliniska studier visar att paracetamol har låg antiinflammatorisk effekt (Chandrasekharan *et al.* 2002). Likheten ligger i att både NSAID och paracetamol uppvisar smärtstillande och febernedsättande effekt (Chandrasekharan *et al.* 2002).

Paracetamol, en centralt verkande substans?

Piletta *et al.* (1991) påstår att verkningsmekanismen hos paracetamol ofta förknippas med hämning av prostaglandinsyntes trots att en märkbar prostaglandinhämning inte kan ses lokalt i skadade vävnader. De medger även att tidigare studier visar att paracetamol inducerar cyklooxygenashämning i in vitro-studier men att enzymet från perifera vävnader inte hämmas i lika stor utsträckning. Piletta *et al.* (1991) testade transkutan elektrisk nervstimulering på suralnerven (som går längs baksidan av benet ut i foten) hos friska frivilliga försökspersoner. Studien var dubbelblind samt placebokontrollerad. Stimuleringen orsakade smärta varpå paracetamol markant höjde smärtröskelvärdet samtidigt som denna höjning inte kunde ses från den lokalt verkande acetylsalicylsyran som användes i samma försök. Detta pekar på en eventuellt centralt verkande effekt i detta försök. Paracetamol har förmågan att passera blod-hjärn-barriären vilket förmodligen är anledningen till dess synligt centralt verkande effekt. Två timmar efter intravenös administrering ses koncentrationer i cerebrospinalvätskan (hjärn-ryggmärgsvätska) och i plasman som nästan helt ekvivalenta. De höga paracetamolkoncentrationer i cerebrospinalvätskan, menar Piletta *et al.* (1991) understryka den fysikalkemiska betydelsen av läkemedel för effekter på det centrala nervsystemet. Att paracetamol har en betydligt mer central effekt än acetylsalicylsyra skulle eventuellt peka på fördel att administrera dessa tillsammans, en hypotes som dock kräver vidare forskning menar Piletta *et al.* (1991). Vetenskapen om att paracetamol markant skiljer sig från andra NSAID men att viss koppling mellan prostaglandinsynteshämning och paracetamol finns, har utvecklat teorin om inhibering av ett tredje COX-enzym, COX-3.

Paracetamol och COX-3-hypotesen

Chandrasekharan *et al.* (2002) påstår att COX-3 enzymet syntetiseras från COX-1-genen och uttrycks framför allt i hjärnbarken och hjärtat hos människa. COX-3 har både en strukturell likhet till COX-1 och 2 samt den katalytiska förmågan (gynnar alltså också bildningen av prostaglandiner). COX-3-enzymet verkar vara känsligt för läkemedel som verkar smärtstillande, febernedsättande men enbart till viss grad antiinflammatoriskt. Eftersom COX-3 utvecklas från COX-1-genen och inhibering av enzymet medför febernedsättning och smärtlindring spelar COX-1-genen antagligen en nyckelroll gällande smärta och feber. Det finns givetvis olika orsaker till smärta men produkter från den enzymatiska aktiviteten hos både COX-1 eller COX-2 inducerar båda smärta (Chandrasekharan *et al.* 2002). COX-2-enzymet inducerar smärta orsakad av inflammation och proinflammatoriska substanser i större utsträckning än COX-1-enzymet (Riendeau *et al.* 2001).

COX-3 verkar, enligt studier på insektsceller vara membranbundet. Experimentella studier visar att COX-3 hos hunddjur inhiberas i större utsträckning av paracetamol i jämförelse med COX-1 och 2 hos möss. Därför skulle inhibering av COX-3-enzymet kunna vara förklaringen till paracetamols smärtstillande och kanske även febernedsättande effekt (figur 1). Trots att COX-3-enzymet genetiskt sett är mycket lik COX-1-enzymet finns det varianter som beror på att en intronsekvens inte klipps bort under mRNA splicingprocessen för COX-3. COX-3 är alltså en intronsekvens längre än COX-1, annars ser de sekvensmässigt lika ut. På grund av att denna intronsekvens ej klipps bort från COX-3-enzymet medför detta ett annat protein som därför också uppvisar skillnader i enzymatiska egenskaper jämfört med COX-1-enzymet (Chandrasekharan *et al.* 2002).

Enligt studier av Chandrasekharan *et al.* (2002) uppnås ett jämviktsläge av läkemedelskoncentration i plasma efter terapeutisk dos av paracetamol, men en märkbar inhibering av de tre enzymerna ses bara hos COX-3-enzymet. Ett flertal smärtstillande och febernedsättande läkemedel har de rätta fysikalkemiska egenskaperna för att lätt passera blod-hjärnbarriären och kan därför ansamlas i det centrala nervsystemet i såpass stor utsträckning att de skulle kunna inhibera COX-3 och således ge en central effekt (Chandrasekharan *et al.* 2002).

Serotonin-hypotesen

Serotonin, 5-HT (5-Hydroxytryptamin) är en endogen (kroppsegen) ligand som har många viktiga funktioner i kroppen. Den verkar exempelvis på nervsystemet, ökar motiliteten (rörligheten) i mag- och tarmsystemet, bidrar till kärlsammandragning och är en viktig smärtmediator genom stimulering av nociceptiva nervändar. Serotonin verkar även i centrala nervsystemet genom att reglera humör, aptit, smärtupplevelser samt kräkreflexer. Störningar i serotoninssystemet kan sammankopplas med exempelvis migrän (Rang *et al.* 2015).

I en studie av Liu *et al.* (2013) användes formalin för att trigga smärtresponser hos möss varefter man sedan kontrollerade den analgetiska (smärtstillande) effekten av paracetamol och hur denna effekt påverkades av en selektiv serotoninantagonist (5-HT₇R) som administrerades spinalt. Studien visade att den selektiva serotoninantagonisten minskade paracetamols smärthämning, vilket föreslår att paracetamol verkar på serotoninreceptorer (Liu *et al.* 2013, figur 1).

Serotoninmedierad verkan av paracetamol efter oral administrering stärks även från en studie av Bonnefont *et al.* (2003) testad på råttjur inkluderande formalin med subkutan (under huden) injicering vid råttjurets baktass. Den uppkomna smärtan tolkades från beteendemässiga faktorer såsom benägenhet att bita och att slicka på smärtområdet. Att paracetamol hade smärtstillande effekt tolkades genom att de beteendemässiga faktorerna som tolkades som smärta, upphörde eller minskade. I studien testades ytterligare en (5-HT_{1A}) serotoninreceptorantagonist injicerad intratekalt (innanför hjärnhinnorna) samt dess inverkan på paracetamols analgetiska effekt. Att serotoninantagonisten självt inte ledde till beteendemässiga förändringar kontrollerades innan formalinet tillsattes. Resultatet presenteras som signifikant och en tydlig minskning av paracetamols smärtstillande effekt kan ses vid närvaro av serotoninantagonisten. Dock verkar inte paracetamol injicerad intratekalt kunna aktivera serotoninssystemet. En lokalt verkande effekt från intraplantar (i fotsulan) administrering verkade vara mycket begränsad och uppkom först efter höga doser. Paracetamol uppvisade spinal serotonergisk effekt vilket kan bero på en supraspinalt (ovanför ryggmärgen) belagd komponent som har förmågan att aktivera serotoninssystemet. Individuer behandlade med paracetamol plus serotoninantagonisten visade statistisk signifikant skillnad i jämförelse med de som behandlats med paracetamol plus koksaltlösning men inte med de som hade behandlats med antingen koksaltlösning plus koksaltlösning eller koksaltlösning plus serotoninantagonisten (Bonnefont *et al.* 2003).

Det endocannabinoida systemet och serotonin

De centrala effekterna av cannabinoider i människan har noterats vara exempelvis smärtlindring, skärpta sinnen, välbefinnande och ökad aptit. När cannabinoider finns naturligt i kroppen kallas de för endocannabinoider och dessa upptäcktes faktiskt efter upptäckten att de kroppsfrämmande cannabinoiderna hade effekt. CB₁-receptorer (cannabinoid receptor 1) finns i centrala nervsystemet medan CB₂-receptorer kan hittas i perifera vävnader. Receptorerna är g-proteinkopplade receptorer och CB₁-receptorn är kopplat till det inhibitoriska G_{i/o}-proteinet vilken medierar sin effekt genom inhibering av adenylatcyklas samt spänningsberoende kalciumkanaler. De bidrar även till frisättning av kalium. Inhibering av adenylatcyklas bidrar till mindre bildning av cAMP (cykliskt adenosinmonofosfat). Minde aktiverat cAMP leder till att funktioner reglerade av cAMP minskas. Exempel på cAMPs funktioner är energimetabolism, celledelning och differentiering, transport av joner, reglering av jonkanaler och kontraherandet av proteiner i muskler. Frisättningen av kalium leder till hyperpolarisering av membranet (Rang *et al.* 2015).

Att det endocannabinoida systemet spelar en viktig roll i kroppens egna smärtstillande effekter har varit känt sedan tidigare. Ibrahim *et al.* (2005) visade att CB₂-receptorer utför sin antinociceptiva (smärtstillande) verkan genom stimulering av transmittofrisättning. Dessa transmittosubstanser verkade sedan på opioidreceptorer (likt exempelvis morfin) (Ibrahim *et al.* 2005). Tillsatta cannabinoider i både djur- och människoförsök medför smärtstillande effekter redan vid låga doser. Cannabinoidreceptorer finns rikligt i hjärnan och ryggmärgen och kan där reglera vissa autonoma funktioner samt olika typer av smärtrösklar (Herkenham *et al.* 1991). Både CB₁-och CB₂-receptoragonister kan dessutom sänka smärtröskelvärdet för vissa typer av smärta, speciellt på en spinal nivå (Cui *et al.* 2013). Intratekal administrering av cannabinoider hämmar smärtsignalvägen mellan ryggmärgen och hjärnan, förmodligen ett resultat av cannabinoidernas interagerande med cannabinoidreceptorer (Mallet *et al.* 2008).

Paracetamols förstärkning av det endocannabinoida systemet

Anandamid är en endogen ligand till CB1-receptorn och vid bindning till receptorn induceras smärthämning. Anandamid metaboliseras av fettsyraamiden hydrolas, FAAH (Fatty Acid Amide Hydrolase). I hjärnan kan paracetamol metaboliseras till AM404 (N-arakidonoylaminofenol), den biologiskt aktiva metaboliten av paracetamol som kan verka som inhibitor till FAAH. Denna inhibering leder därefter till minskad mängd cannabinoider som kan återupptas i synapsen. Större mängd postsynaptiskt anandamid kan då verka på den postsynaptiska cellens CB1-receptorer och därmed inducera mer smärtlindring (Högestätt *et al.* 2005, Dani *et al.* 2007, Mallet *et al.* 2008).

Paracetamols koppling mellan endocannabinoida systemet och det serotonerga systemet

Med hypotesen att paracetamols interagerande med det endocannabinoida systemet skulle ligga till grund för paracetamols förstärkning av det serotonerga smärstillande systemet inledde Mallet *et al.* (2008) en omfattande studie på råttor (*Rattus norvegicus*). Delvis testades paracetamols smärstillande verkan på CB1-receptorn (cannabinoid receptor 1) samt om denna verkan är direkt eller inte. Studien syftade även till att studera det serotonerga systemets roll i inhibering av smärtsignaler mellan hjärna och ryggmärg (det descenderande smärthämmande systemet). Detta gjordes med ACEA (arakidonyl-2'-kloroetylamid), en CB1-receptoragonist för att bedöma medverkan i serotoninssystemet, något som sedan användes för en jämförelse med paracetamol (Mallet *et al.* 2008). Resultaten visar en signifikant antinociceptiv effekt av paracetamol, en effekt som helt inhiberades av en selektiv CB1-receptor antagonist (AM-251), vilket talar för paracetamols eventuella verkan på CB1-receptorer. Dessa resultat överensstämmer även med en tidigare studier av Dani *et al.* (2007). En radioligandbindningsstudie utfördes för att testa om paracetamol aktivt binder till CB1-receptorn eller inte. Resultaten var ej signifikanta trots hög dosering. Detta indikerar enligt Mallet *et al.* (2008) på en indirekt verkan för paracetamols aktivering av CB1-receptorn.

En dos-responseeffekt kollades för CB1-receptoragonisten ACEA vilken visade sig vara dosberoende samt att den inhiberades av AM-251 (CB1-receptorantagonisten), som förväntat. Därefter kollades ACEAs effekt efter lesionering (skada) på de serotonerga vägarna mellan förlängda märgen och ryggraden. För att inducera denna skada användes 5,7-DHT (5,7-dihydroxytryptamin, ett neurotoxin som minskar koncentrationen av serotonin). Behandlingen reducerade signifikant serotoninnivåer vilket ledde till en undertryckning av ACEAs effekt. Det sistnämnda presenterar en eventuell verkan av ACEA på serotoninreceptorer. Därefter jämfördes detta med paracetamol (Mallet *et al.* 2008). Från tidigare studie visades paracetamols antinociceptiva (smärstillande) effekt inhiberas av två olika serotoninantagonister WAY-100.653 och tropisetron (Bonfont *et al.* 2003). Den antinociceptiva effekten hos ACEA blockerades också genom båda dessa serotoninantagonister (Mallet *et al.* 2008).

Att paracetamol verkar ha effekt i det cannabinoida systemet kan vara en viktig nyckel mellan olika hypoteser. Dess verkan i det cannabinoida systemet verkar vara tvåfaldig, delvis genom att hämma FAAH och på så sätt hjälpa kroppens endogena smärtlindringssystem via CB1-receptorer och anandamider men också genom att indirekt påverka CB1-receptorer. Att CB1-receptoragonistens effekt undertrycktes av minskade serotoninivåer talar även för en koppling mellan det cannabinoida systemet och det serotonerga systemet (Mallet *et al.* 2008).

TRPA1-hypotesen

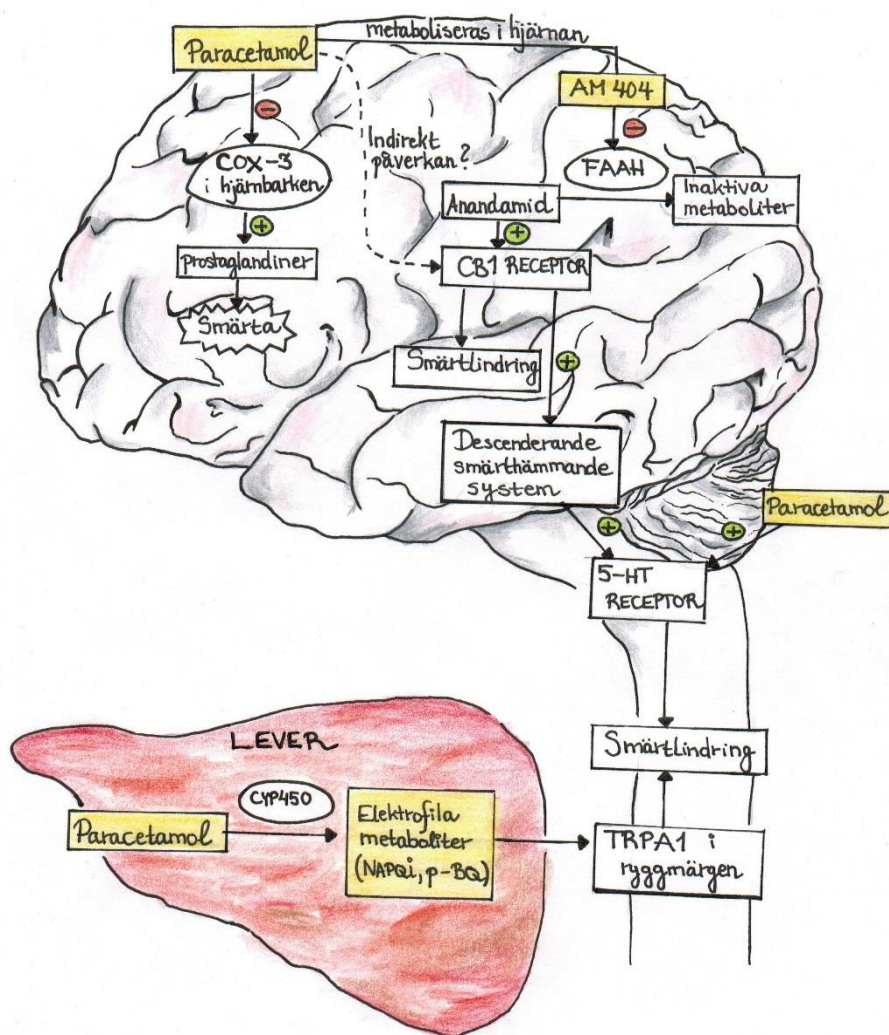
TRP (transient receptor potential)-kanaler är en grupp jonkanaler. Många är lokaliserade på sensoriska nerver och som kan aktiveras av olika typer av stimuli, exempelvis som temperatur eller kemiskt stimuli. När dessa aktiveras är de permeabla (genomsläppliga) för katjoner så som exempelvis natrium Na^+ och kalcium Ca^{2+} . Inflödet av natrium i en nervcell medför depolarisering av cellmembranet och ökar chanserna för att en aktionspotential uppnås. Kalciuminströmning till perifera nerver kan dessutom resultera i frisläppning av smärtmediatorer (Rang *et al.* 2015).

Proteinet TRPA1 ingår i gruppen TRP-kanaler och fungerar som en sensor för vissa typer av smärta, temperaturer, smaker och tryck. Oftast aktiveras dessa av elektrofila substanser och släpper igenom katjoner. De är belägna i plasmamembranet hos de flesta djurgrupper. På grund av sin smärtförmedlande effekt är de dessutom mål för olika läkemedel (Andersson *et al.* 2011).

Paracetamol metaboliseras stegvis till ett flertal elektrofila substanser. Metabolismen inkluderar enzymer så som CYP450 (cytokrom p450 som bland annat finns i lever), monooxygenaser och peroxidaser vilka är exempel på enzymer som ofta finns i det centrala nervsystemet. Med hypotesen att paracetamols metaboliter kunde aktivera TRPA1 i ryggmärgen och därmed mediera sin smärtstillande effekt (figur 1) inledde Andersson *et al.* (2011) en studie för att undersöka detta. För att undersöka den antinociceptiva effekten användes ”hot plate-test” som inkluderade mätningar för tiden det tog innan mössen uppvisade beteende som tydde på att de ville gå av från den 53°C varma plattan. Det användes även beteendemässiga analyser för att mäta smärta efter injektion av ättiksyra. Intraplantar injektion av paracetamol hade ingen effekt överhuvudtaget, vilket återigen styrker dess centrala verkan eftersom någon lokal smärtlindrande effekt inte kunde ses.

Efter att smärta inducerats studerades subkutant administrerad paracetamol för möss som har båda alleler för TRPA1-proteinet ($\text{TRPA1}^{+/+}$) samt för möss som saknade båda alleler för proteinet ($\text{TRPA1}^{-/-}$). Studien visade att paracetamolbehandlade möss som hade allelerna ($\text{TRPA1}^{+/+}$) stannade signifikant längre tid på plattan utan att indikera på att vilja gå av än $\text{TRPA1}^{-/-}$ möss, vilket indikerar på att TRPA1-kanalen kan ha en betydande roll gällande den smärtstillande effekten av paracetamol. Kalciumjonkoncentrationen användes också som ett mått på om TRPA1-kanalerna aktiverats och på så sätt tillåtit genomströmning av kalciumjoner. Paracetamol samt en av dess metaboliter p-AP (*p*-aminofenol) visade ingen signifikant ökning av kalciumjonkoncentration i de undersökta cellerna vilket indikerar på att dessa inte är TRPA1 agonister. Metaboliten NAPQI (N-acetyl-*p*-bensokinon-imin) däremot visade signifikanta resultat där kalciumjonkoncentrationen tydligt ökade efter ökad tillsats av NAPQI (den var med andra ord koncentrationsberoende) vilket kan betyda att denna elektrofila substans är en TRPA1-aktivator. Även en annan metabolit av paracetamol, p-BQ (*p*-benzokinon) uppvisar denna aktivering av TRPA1-kanaler.

För att undersöka om denna aktivering av TRPA1-kanalerna också leder till smärtstillande effekter utfördes beteendemässiga dos-responstester med metaboliterna. NAPQI och p-BQ visade båda signifikanta resultat där de beteendemässiga tendenserna till att vilja gå av plattan minskade med ökad dos paracetamolmetaboliter. För att kontrollera för detta användes en, sedan tidigare känd TRPA1 aktivatör (cinnamaldehyd) som uppgav likartade beteendemässiga resultat. När TRPA1 aktiveras så ökar inflödet av kalcium vilket i sin tur inaktiverar spänningkänsliga kalciumkanaler. Katjoninströmning via TRPA1 leder också till att membranet depolariseras och hämmar därmed spänningkänsliga natriumkanaler. Därmed minskar den neuronala retningen samt den aktionspotentialberoende neurotransmittofrisättningen (Andersson *et al.* 2011).



COX-3 (Cyklooxygenas 3) – gynnar bildning av prostaglandiner.

Prostaglandiner – verkar aktiverande på andra substanser som medierar smärta.

AM404 (N-arakidonylaminofenol) – nedbrytningsprodukt av paracetamol.

Anandamid – kroppsegen substans som kan verka positivt på det endocannabinoida systemet och på så sätt inducera smärtlindring.

CB1-receptor – cannabinoid receptor 1 (ingår i det endocannabinoida systemet för att bland annat ge upphov till smärtlindring).

FAAH (Fatty Acid Amide Hydrolase) – Metaboliserar anandamid till inaktiva metaboliter.

5-HT-receptor (serotoninreceptor).

CYP450 (cytokrom p450) – enzym som kan metabolisera paracetamol.

TRPA1 (transient receptor potential, av typ A1) – kan ge upphov till smärtlindring om de aktiveras i ryggmärgen.

Figur 1. Sammanfattande bild gällande hypoteserna om paracetamols smärtstillande verkningsmekanism/er som presenteras i denna litteraturstudie. I figuren presenteras hypotesen om den hämmande effekten på COX-3, minskad prostaglandinsyntes och därmed minskad smärta. Hypotesen om en verkan på 5-HT (serotonin)-receptorer i ryggmärgen, vilket skulle ge smärtlindring direkt. Hypotesen om en förstärkning av det endocannabinoida systemet → En endogen ligand till CB1-receptor, anandamid metaboliseras av FAAH (Fatty Acid Amide Hydrolase). Paracetamol metaboliseras i hjärnan till AM404 (N-arakidonylaminofenol). AM404 verkar därefter som en inhibitor till FAAH, vilket leder till en ökad mängd anandamid som kan ge upphov till smärtlindring. Hypotesen om en koppling mellan det endocannabinoida systemet och serotoninssystemet, det vill säga att det endocannabinoida systemet skulle ligga till grund för förstärkningen av det serotonerga systemet. TRPA1-hypotesen som bygger på att paracetamols elektrofila metaboliter verkar på TRPA1-receptorer (transient receptor potential, av typ A1) i hjärnan och därmed medierar sin smärtstillande effekt. Ritad av Petra Marttila 2016, inspirerad från Smith HS. 2009.

Diskussion

Syftet med uppsatsen var att ta reda på några av de olika hypoteser som finns kring paracetamols verkningsmekanism men också hur de har prövats. Många hypoteser som har behandlats i uppsatsen baseras på stabila grunder, noggrant genomförda metoder och trovärdiga resultat. Det är därför inte lätt att utesluta en hypotes framför en annan. Under arbetets gång föll insikten att det finns väldigt många hypoteser och att det i denna litteraturstudie skulle vara omöjligt att studera allihop. Därför valdes en kvalitativ metod, att studera de hypoteser som författaren redan fått en introduktion till från tidigare farmakologikurser. Dessa hypoteser ansågs därför ha ett centralt värde och på så sätt kunde även uppsatsen begränsas. Det är därför viktigt att tänka på att detta inte är alla hypoteser om paracetamols smärtstillande verkan som presenterats i forskningsvärlden. De kan däremot vara en viktig nyckel för framtida forskning och slutsatser. Att många av studierna är baserade på djurförsök är dock något man bör tänka på när man analyserar och tolkar resultaten eftersom det kan missleda verkligheten hos motsvarande principer i människa. Finns exempelvis samma signalvägar, mediatorer och enzymssystem i människa som hos exempelvis en mus och uttrycks dessa i likartad utsträckning? Att de flesta resultat som talar för att antinociceptiv effekt av paracetamol uppstått baseras på beteendemässiga mönster på möss är också något som känns lite vagt eftersom smärta inte upplevs på samma sätt i olika individer. En annan aspekt är att paracetamol kanske verkar stimulerande eller inhiberande på en viss mekanism, men att det sedan skulle vara just den mekanismen som bidrar till minskad smärta kanske inte alltid är en självklarhet.

COX-3-hypotesen verkar trovärdig på det sättet att man analyserat mer hämning av COX-3-enzymet än COX-1 och COX-2 från paracetamol. Eftersom prostaglandiner bidrar till magslemhinnans skyddande lager är de där mycket viktiga. Personer som aktivt administrerar COX-hämmare kan få problem på grund av prostaglandinhämningen i magen, exempelvis magsår. Om paracetamol verkar genom att hämma COX-3 skulle det stödja varför paracetamol har en skonsammare effekt mot exempelvis magen, då COX-3 framförallt har setts i hjärnbarken och hjärtat hos människa. Detta skulle betyda att de viktiga prostaglandinerna i magsäcken inte påverkas av paracetamol. Dock baseras denna studie på olika djurtyper, COX-3 testades hos hunddjur och COX-1 och 2 på råttdjur, något som kan vara väldigt missledande eftersom den procentuella andelen av båda enzymerna kan vara olika hos olika arter. Funderingar som dykt upp under arbetet med COX-3-hypotesen är; hur ser förhållandena ut i människan mellan de olika COX-enzymerna och kan vi bära olika genotyper för COX-3-enzymet? Skulle det kunna vara förklaringen till att vissa personer tycker sig erhålla en bra smärtstillande effekt av paracetamol och vissa mindre bra/ingen alls? Bekräftelsen om paracetamols centralt verkande effekt är däremot av stor vikt i och med att det kan underlätta framtida studier att ha en begränsad anatomisk del att undersöka.

Serotoninhypotesens studier presenterar att inhibering av serotoninreceptorer minskar paracetamols smärtstillande effekt, en slutsats som dras efter beteendemässiga faktorer på möss. Eftersom den ena individen inte är den andra lik och kan uppleva smärta på helt olika sätt så bör en viss skepsis tas med i beaktning. Även den slumpmässiga faktorn bör tas med i beräkning, och dessutom kan ett smärtsamt beteendemönster kanske egentligen ha en helt annan förklaring än smärta i något fall. Återigen är studien baserad på djurförsök och frågan om vi kan applicera resultaten på människan kvarstår.

Hypotesen om förstärkning av det endocannabinoida systemet verkar vara allmänt accepterat av ett flertal forskare och behövdes bara kort introduceras för vidare förståelse. Detta kanske inte heller erhåller samma svårigheter i testerna att enbart kolla på om ett ämne metaboliseras av ett annat eller om en synlig inhibering induceras. Hypotesen om en koppling mellan det endocannabinoida systemet och serotoninssystemet tillför en värdefull nyckel, att de två systemen verkar samarbeta och att smärtstillande effekter av cannabinoider minskar vid skada på de serotonerga vägarna. Att paracetamol skulle verka indirekt på CB1-receptorn var slutsatsen från denna studie vilken baseras på att när en CB1-receptorantagonist tillsattes sågs en tydlig inhibering av paracetamols antinociceptiva effekt. Förklaringen till dess indirekta verkan baserades på radioligandbindningsstudier som visade att paracetamol inte direkt verkade på receptorn. Det var på så sätt en noggrant genomförd studie med många faktorer i beräkning. Eftersom en direkt verkan inte kunde ses är det kanske svårt att dra en så stor slutsats som att substansen faktiskt interagerar med det endocannabinoida systemet till fullo. Om detta stämmer på möss tillkommer även i detta fall frågan om systemen är likartade på människa.

TRPA1-hypotesen grundar sig i att paracetamols metaboliter kan aktivera TRPA1-receptorer i ryggmärgen. En viktig iakttagelse från denna studie var att intraplantar injektion av paracetamol ej gav upphov till smärtstillande effekt, något som styrker hypotesen om paracetamols centrala verkan. En noggrant genomförd studie som både kontrollerade för om allelerna för TRPA1-receptorerna fanns samt om någon kalciumgenomströmning kunde ses. Det var även av fördel att de kontrollerat för paracetamols metaboliter eftersom de har andra fysikalkemiska egenskaper jämfört med paracetamol självt. Nämnvärt också i sammanhanget med TRPA1-hypotesen är att det finns många andra kalciumjonkanaler som skulle kunna vara paracetamolmetaboliternas målprotein. Även denna studie testades på möss och en intressant frågeställning är hur människans TRPA1-receptorer påverkas av paracetamol.

Tidigare studier har många gånger syftat på att ta reda på om paracetamol utför någon form av verkan överhuvudtaget eller inte, de tillsätter antagonister och utför statistiska analyser på skillnaderna. Dessa studier behöver inte förklara den exakta verkningsmekanismen bara för att man hittar en positiv korrelation just för situationen. Det måste inte heller vara hela svaret på frågan, kanske har till och med substansen fler än en verkningsmekanism? En frågeställning som leder till vidare funderingar som exempelvis: hur ska studier genomföras för att kontrollera för bara en mekanism?

Även fast ingen av de studerade hypoteserna gav ett hundra procentigt svar så fanns det delar inom varje studie som är viktiga för framtida studier. En pusselbit i taget läggs ihop, men frågan kvarstår. Syftet med uppsatsen är uppnådd och sammanfattningsvis kan man inte säga att paracetamol enbart har en verkningsmekanism och inte heller att den ena hypotesen utesluter den andra. Forskare är idag mycket väl medvetna om att varje hypotes konkurrerar om sin trovärdighet och många av artiklarna i fältet verkar mycket entusiastiska till sina resultat och syftar kanske extra mycket till att försvara en hypotes. Att paracetamol har en centralt verkande effekt är en gemensam nämnare i forskningsfältet då många resultat generellt verkar ha övertygat de flesta forskare.

Tack

Till de personer som på något sätt bidragit till hur slutversionen av min uppsats faktiskt blev vill jag tillägna ett stort tack. Extra stort tack till:

Min första handledare Elena Jazin för bra handledning och tips under skrivprocessen.

Min andra handledare Cecilia Berg för vägledande kommentarer och seminarier.

Min goda vän Petra Marttila, framför allt för mycket fin illustration (figur 1) samt för stor hjälp gällande farmakologiska problem och språktvister jag stötte på under skrivprocessen.

Mina duktiga medstudenter och återkopplare Ruth Nigatu och Pernilla Vesterberg för värdefulla kommentarer.

Min mamma Gundel Strömberg, legitimerad operationssjuksköterska på Torsby sjukhus för användbar genomgång av olika administrationssätt och kroppens anatomi samt värdefulla kommentarer under skrivprocessen.

Min syster Karin Kjernsmo, doktor på Bristols universitet för all hjälp med regler angående formalia samt värdefulla tips och kommentarer till min poster.

Sist men inte minst också min pojkvän Hampus Österberg för enormt stöd genom hela resan och värdefulla kommentarer under skrivprocessen.

Referenser

- Andersson DA, Gentry C, Alenmyr L, Killander D, Lewis SE, Andersson A, Bucher B, Galzi J-L, Sterner O, Bevan S, Högestätt ED, Zygmunt PM. 2011. TRPA1 mediates spinal antinociception induced by acetaminophen and the cannabinoid Δ^9 -tetrahydrocannabinol. *Nature Communications* **2**: 551.
- Bonnefont J, Alloui A, Chapuy E, Clottes E, Eschalier A. 2003. Orally Administered Paracetamol Does Not Act Locally in the Rat Formalin Test: Evidence for a Supraspinal, Serotonin-dependent Antinociceptive Mechanism. *Anesthesiology* **99**: 976–981.
- Busse R, Förstermann U, Matsuda H, Pohl U. 1984. The role of prostaglandins in the endothelium-mediated vasodilatory response to hypoxia. *Pflügers Archiv* **401**: 77–83.
- Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KLT, Evanson NK, Tomsik J, Elton TS, Simmons DL. 2002. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **99**: 13926–13931.
- Cui JH, Ju J, Yoon MH. 2013. Pharmacology of Cannabinoid Receptor Agonists and a Cyclooxygenase-2 Inhibitor in Rat Bone Tumor Pain. *Pharmacology* **92**: 150–157.
- Dani M, Guindon J, Lambert C, Beaulieu P. 2007. The local antinociceptive effects of paracetamol in neuropathic pain are mediated by cannabinoid receptors. *European Journal of Pharmacology* **573**: 214–215.

- Ferrari LF, Levine E, Levine JD. 2013. Role of a novel nociceptor autocrine mechanism in chronic pain. *European Journal of Neuroscience* **37**: 1705–1713.
- Ginburg I, Kohen R. 1995. Synergistic effects among oxidants, membrane-damaging agents, fatty acids, proteinases, and xenobiotics: killing of epithelial cells and release of arachidonic acid. *Inflammation* **19**: 101-118.
- Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, Costa B de, Rice KC. 1991. Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *The Journal of Neuroscience* **11**: 563–583.
- Höggestätt ED, Jönsson B a. G, Ermund A, Andersson DA, Björk H, Alexander JP, Cravatt BF, Basbaum AI, Zygmunt PM. 2005. Conversion of acetaminophen to the bioactive N-acylphenolamine AM404 via fatty acid amide hydrolase-dependent arachidonic acid conjugation in the nervous system. *The Journal of Biological Chemistry* **280**: 31405–31412.
- Ibrahim MM, Porreca F, Lai J, Albrecht PJ, Rice FL, Khodorova A, Davar G, Makriyannis A, Vanderah TW, Mata HP, Malan TP. 2005. CB2 cannabinoid receptor activation produces antinociception by stimulating peripheral release of endogenous opioids. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **102**: 3093–3098.
- Liu J, Reid AR, Sawynok J. 2013. Antinociception by systemically-administered acetaminophen (paracetamol) involves spinal serotonin 5-HT7 and adenosine A1 receptors, as well as peripheral adenosine A1 receptors. *Neuroscience Letters* **536**: 64–68.
- Mallet C, Daulhac L, Bonnefont J, Ledent C, Etienne M, Chapuy E, Libert F, Eschalier A. 2008. Endocannabinoid and serotonergic systems are needed for acetaminophen-induced analgesia. *Pain* **139**: 190–200.
- Piletta P, Porchet HC, Dayer P. 1991. Central analgesic effect of acetaminophen but not of aspirin. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* **49**:350-4.
- Pitchford S, Levine JD. 1991. Prostaglandins sensitize nociceptors in cell culture. *Neuroscience Letters* **132**: 105-108.
- Rang & Dale's Pharmacology 8th ed. Rang HP, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G. 2015. s. 33; 368; 200; 231-233 509-514. Elsevier Churchill Livingstone, China
- Refat MS, Mohamed GG, El-Sayed MY, Killa HMA, Fetooh H. Spectroscopic and thermal degradation behavior of Mg(II), Ca(II), Ba(II) and Sr(II) complexes with paracetamol drug. *Arabian Journal of Chemistry*, doi 10.1016/j.arabjc.2013.08.017.
- Riendeau D, Percival MD, Brideau C, Charleson S, Dubé D, Ethier D, Falgoutyret J-P, Friesen RW, Gordon R, Greig G, Guay J, Mancini J, Ouellet M, Wong E, Xu L, Boyce S, Visco D, Girard Y, Prasit P, Zamboni R, Rodger IW, Gresser M, Ford-Hutchinson AW, Young RN, Chan C-C. 2001. Etoricoxib (MK-0663): Preclinical Profile and Comparison with Other Agents That Selectively Inhibit Cyclooxygenase-2. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **296**: 558–566.

- Smith HS. 2009. Potential Analgesic Mechanisms of Acetaminophen. *Pain Physician* **12**: 269-280 (Figurinspiration).
- Wang X, Fang Y, Liang J, Yan M, Hu R, Pan X. 2014. 5-HT7 Receptors Are Involved in Neurogenic Dural Vasodilatation in an Experimental Model of Migraine. *Journal of Molecular Neuroscience* **54**: 164–170.

Paracetamol och dess smärtlindrande verkningsmekanism/er:

Etisk bilaga

Linda Kjærnsmo

Självständigt arbete i biologi 2016

Bakgrund

Studiens syfte var att ta reda på några av de olika hypoteser som finns angående paracetamols verkningsmekanism/er samt att ta reda på hur dessa hypoteser har prövats. De hypoteser som presenteras i arbetet är: COX-3-hypotesen, serotonin-hypotesen, hypotesen om en koppling mellan det endocannabinoida systemet och serotonin-systemet samt TRPA1-hypotesen. Med undantag av försöket inkluderande friska, frivilla försökspersoner så var samtliga studier baserade på djurförsök. Ett djur kan uppenbart inte förklara sig frivillig eller inte, och individen utsätts då för en situation som människan bestämmer på eget bevåg. Den första och kanske den största etiska frågan som personligen dyker upp är: anses kunskapen om läkemedels verkningsmekanism så viktig att vi människor anser oss äga rätten att inducera lidande på andra arter?

Forskningsmetoder

Att forskare som utsätter djur för lidande värderar de mänskliga fördelarna med kunskap om smärtstillande läkemedel högre än djurens välmående för att nå denna kunskap, är ett faktum. Av konsekvensetiska skäl anser jag att detta är fel i och med att djuren utsätts för fruktansvärda konsekvenser, för att människan få nyttan. Att dessutom använda metoder där beteendemässiga tendenser till smärta är något man påstår vara mätbart överhuvudtaget medför hos mig en stor skepsis. Det finns många felkällor i den sortens metodik så som exempelvis den enkla aspekten att den ena individen ej uppfattar smärta på samma sätt som den andra individen. Ett förändrat eller avvikande beteendemönster skulle dessutom kunna uppkomma av andra anledningar än smärtan i sig så som exempelvis rädsla, slumpfaktorer och sjukdom. För att efter inducerad smärta kolla om paracetamol hade givit effekt analyserades återigen beteendemönstret och när de antydda tendenserna till att uttrycka smärta minskade, ansågs paracetamol ha utfört sin verkan. Eftersom ingen individ är den andra lik finns här en rad faktorer som kan påverka om läkemedlet faktiskt har utövat verkan eller inte. Djuren kan dessutom inte förmedla någon form av smärtskala i avseende hur ont en viss metod faktiskt gör. Därför kan ett beteendemönster som människan noterar som "lite ont" i verkligheten kanske vara något som är fruktansvärt plågsamt för individen i fråga. En annan praktisk nackdel med att utföra tester på djur är dessutom att enzym-system och signaleringsvägar markant kan skiljas åt mellan olika arter och bör kontrolleras för innan resultaten anses applicerbara på människan.

Framtida etiska aspekter

Det handlar inte i detta fall om "på liv eller död" att veta hur paracetamol verkar. Skulle det räcka med att nöja sig med vetskapen om att paracetamol faktiskt fungerar smärtstillande samt vilka eventuella bieffekter som kan uppstå? Det sistnämnda är något som dokumenterats och undersökts under en mycket lång tid utefter behandlade personers egna erfarenheter. Om trots detta nyfikenheten och nyttan av resultaten värderas högt skulle det kanske räcka med studier på cellkulturer och frivilliga människor för att komma så nära svaret som möjligt?

Mitt arbete

Referenssorteringen valdes med utgångspunkt att lyfta fram olika prövade hypoteser. Ett antal nya referenser användes samt några äldre för att lyfta fram att den specifika hypotesen funnits under en längre tid. Artiklar och material har hämtats från databaser som Web of Science och PubMed. Tillförlitligheten till referenserna har förmodligen legat mycket i antal citeringar samt tidskrifternas popularitet. Referenser anges löpande i texten i enlighet med de regler som finns på Uppsala universitet. Med utgångspunkt att mina egna slutsatser uteslutande finns under rubriken diskussion anser jag att uppsatsen är tydlig nog med vad som är egna idéer och slutsatser och vad som är andras hypoteser och arbeten.