
Nordiska pionjärer som vägvisare inom koagulationsforskningen

DAG NYMAN

Så länge mänskligheten existerat har blodet varit "ein ganz besonderer Saft", ett livselixir omfattande alla livsyttningar, omhöljt av mystisk kraft. Alla blödde vid skador, somliga rikligare än andra och ofta med dödlig utgång. Trots detta var åderlåtning en del i den terapeutiska verktygslådan under lång tid. Blodet levrade sig och kunde åter upplösas, vilket jägare tidigt konstaterade vid slakt av jagade djur. Blodstillande drastiska åtgärder fanns redan sedan 1550 f.Kr., såsom kauterisering med glödande järn eller kokande olja. På grund av blodets mystiska natur var det viktigt att hålla blodet i familjen, från faraonerna till europeiska kejsare. Detta förde med sig nackdelen att blödningsbenägenhet samlades i familjer, särskilt högadliga sådana. Den "kungliga sjukdomen" i Europa från huset Sachsen-Coburg-Saalfeld spreds under fyra generationer via drottning Victoria till husen Romanov och Bourbon. Via drottning Victorias läkare William Jenner och John Wickham Legg initierades forskningen om hemofilins natur och behandling under senare delen av 1800-talet med återverkningar för koagulationsforskningen i allmänhet även i de nordiska länderna. Det är ett första exempel på behovsdriven uppdragsforskning med global spridning inkluderande de nordiska länderna.

För hundra år sedan, vid den tiden då Erik Adolf von Willebrand började sina undersökningar av blödarfamiljen från Föglö, beskrevs blodkoagulationen med 4-komponentsmodellen skapad av fysiologen Morawitz (1). Trombocyterna var bekanta till utseendet, liksom för deras betydelse för uppbyggnaden av den vita blodproppen samt som orsak till blödningsbenägenhet vid lågt trombocytantal. Trombocyternas kefalineffekt, som accelererade koagulationen, var känd och även en funktionell trombocytrubbning med blödningsbenägenhet, trombasteni, hade beskrivits (2). Ärftlig hemofili var känd fenomenologiskt

under två tusen år och beskriven som en koagulopati 1840 som kunde behandlas med transfusion (3). Venös tromboembolisk sjukdom var 1865 beskriven av Virchow, som med sin vetenskapliga metod och användningen av mikroskopi lade grunden till det som senare kom att kallas "Virchows triad" (4). Den första lyckade embolektomi utfördes av Kirschner 1924 enligt en princip utvecklad av Trendelenburg och resulterade i att ett färdigt set för nödfallsempolektomi fanns i patientrummet på kirurgiska kliniker. Arteriella tromboemboliska pålagringar uppkom som följd till arteriosklerotisk eller annan kärlskada, men trombosens association till hjärtinfarkt var fortfarande 1939 obestämd (5). Det dröjde ända till 1973 innan konfusionen mellan trombos till följd av hjärtinfarkt eller som orsak till hjärtinfarkt utreddes. Under de år som förflutit har möjligheter till behandling av patienter med blödningar eller tromboemboliska sjukdomar utvecklats otroligt mycket, samtidigt som profylax av sådana tillstånd tillkommit, vilket i avgörande omfattning har förhindrat morbiditet och invaliditet. I denna utveckling har de nordiska länderna varit i högsta grad involverade. I det följande vill jag ta upp några av de stora nordiska föregångarna. – Mycket subjektivt och utan anspråk på fullständighet, enligt personer som jag träffat eller som varit

SKRIBENTEN

Professor h.c. **Dag Nyman**, MD, är docent och specialist i inre medicin. Efter läkarexamen i Basel, Schweiz, 1967 arbetade han på koagulationslaboratorierna vid medicinska universitetskliniken i Basel och Karolinska sjukhuset i Stockholm under flera år. Han var biträdande överläkare vid inremedicinska kliniken på Ålands Centralsjukhus 1980–1992 och överläkare/klinikchef från 1992 fram till pensioneringen 2005. För närvarande är han ledare för en forskningsgrupp för fästingburna sjukdomar.

av speciellt intresse under mina fyrtio aktiva år med frågor från koagulation till hemostas och trombos.

Dansk nyfikenhet

I Danmark fanns Henrik Dam, en biokemist som hade studerat mikrokemi hos Pregl innan han utnämndes till professor i Köpenhamn. Jag nämner här nobelpristagaren Fritz Pregl i Graz, eftersom han haft inflytande på andra blivande nordiska koagulationsforskare, såsom Erik Jorpes via Einar Hammarsten. Dam var intresserad av sterolmetabolism och gjorde försök med kolesterolfri uppfödning av kycklingar. Dessa visade sig syntetisera kolesterol själva men helt oväntat uppstod en abnorm blödningsbenägenhet. Denna förorsakades av brist på en fettlöslig hittills obekant substans som betecknades K-vitamin och av att den direkta orsaken till blödningsbenägenheten var en koagulopati på grund av protrombinbrist. En biologisk bestämningsmetod för K-vitamin, mätt som U/g foder, utvecklades och fältet för intensiva studier av K-vitamin och protrombin var öppet. Henrik Dam fick Nobelpriset 1943 tillsammans med Edward A. Doisy för sina upptäckter om den kemiska naturen av K-vitamin.

Jag träffade aldrig Henrik Dam, men kunde konstatera att de kycklingstudier han utförde så väl, att han kunde bestämma innehållet av K-vitamin i kycklingfoder och nå enastående resultat, var klart värda ett Nobelpris. Efter att tillsammans med en kollega ha fött upp kycklingar kolesterolfritt i laboratoriet, producerat vävnadstrombokinas ur kycklinghjärnor, lärt blodprovstagning på kycklingar och fått en Quick-metod för kycklingprotrombinkomplex att fungera, var det inte med första försöket möjligt att kvantitera K-vitamin.

Tage Astrup, ytterligare en dansk kemist, har vi att tacka för konceptet balans i hemostasen 1958 (6) och komplement till MacFarlanes självförstärkande koagulationskaskad. Professor Astrup har bidragit till utvidgad förståelse av det fibrinolytiska systemet, inte enbart som en räkka kemiska reaktioner utan även ur ett livsviktigt organspecifikt fysiologiskt perspektiv. En saknad venbåge på höger handrygg påminner mig fortfarande om utflykter i fibrinolysens labyrinter.

I Danmark, med närhet till det stora havet och direktkontakt med Grönland, var det i det närmaste självklart att man skulle intressera sig för den låga frekvensen av hjärt-kärlsjukdom och venös trombos hos

Grönlands befolkning ur ett dietärt perspektiv. Hans Olaf Bang och Jörn Dyerberg, kliniska kemister från Aalborg, kartlade detta område (7). De fann att den grönländska befolkningen hade betydligt högre nivåer av fleromättade ω -3-fettsyror i blodet än vad som var fallet för boende i Danmark. I samarbete med Moncada och Vane kunde det visas att dessa fleromättade marina fettsyror bildade inaktivt tromboxan A₃ och därmed var antitrombotiskt i motsats till tromboxan A₂, från arakidonsyra, som är protrombotiskt. Fiskolja beforskades därefter intensivt under många år med divergerande uppfattning om klinisk effekt. På senare tid har studier återkommit med positiv effekt av ren eikosapentaensyra- etylester, med triglyceridsänkande och skyddande effekt på koronarkärnen.

Finsk pragmatism

Från Finland kom 1945, trött efter krigstjänst, läkaren Harry Zilliacus till Stockholm i avsikt att få bedriva stimulerande forskning. Han fick kontakt med professor Erik Jorpes och via denne uppstod möjligheten för Zilliacus att koordinera en svensk-finsk studie beträffande behandling av djup ventrombos med heparin. Detta som fortsättning på studier av hjärtkirurgen Clarence Crafoord, medicinska kemisten Erik Jorpes och röntgenologen Gunnar Bauer. Bauer hade 1940 introducerat flebografi som metod för snabb och specifik diagnos av djup ventrombos, följt av tidig effektiv behandling med heparin, samt snabb mobilisering för att minska följdssjukdomar, särskilt akut lungemboli. Heparinbehandling vid konstaterad djup ventrombos förkortade sjukhusvistelsen med 80 procent, och lungembolifrekvensen minskade med 80 procent i studien (8). Vid nordiska koagulationsmöten, som började 1968, var Finland alltid representerat av läkarna Eero Ikkala och Gunnar Myllylä. De båda pionjärerna hade sett behovet av organiserad diagnostik och behandling av koagulopatier och fick av professor Harri Nevanlinna på Röda Korsets blodtjänst ett starkt stöd. Forskningen i hemofilins klinik och laboratoriediagnostik inleddes där 1957. Professor h.c. Eero Ikkala var inremedicinare och kliniker och han utredde tidigt förekomst och förutsättningar för hemofilipatienter i Finland (9). Professor h.c. Gunnar Myllylä beskrev interaktionen mellan trombocyter och immunkomplex och var därmed tidigt ute med studier av trombocyternas roll vid infektionsförsvaret (10). Ikkala och Myllylä

var trogna deltagare på de nordiska koagulationsmötena och var förespråkare för användning av skandinaviska som gemensamt språk. En speciell kollega var ålänningen och professorn i klinisk genetik i Amsterdam Aldur Eriksson, som genom sina genetiska studier också intresserade sig för den "åländska blödersjukan" och kartlade det stora släktträdet för originalfamiljen, som E.A. von Willebrand undersökte. Eriksson samlade uppgifter om 3 880 personer från 10–12 generationer sedan 1650 och gemensamma förfäder med originalfamiljen. Av 1 000 levande familjemedlemmar kunde 500 undersökas beträffande blödningsbenägenhet och 250 konstaterades ha störd hemostas. Tidigt under mina medicinstudier kunde jag under några somrar vara med om "träningläger för forskare" på Åland under Aldur Erikssons ledning – oförglömligt.

Norsk aktivitet

Paul Owren, inre medicinare och tidigare för en kort tid rävfarmare, var en norsk gigant inom koagulationsforskningen. Hans upptäckt 1943 av att en abnorm blödningsbenägenhet berodde på att en dittills obekant koagulationsfaktor, faktor V, saknades reviderade koagulationsschemat enligt Morawitz (11) och utökades 1949 med Owrens fynd av nästa obekant, faktor VII. Behandling av tromboser med dikumarol infördes från USA i mitten av 1940-talet. Owren insåg betydelsen av en säker kontrollmetod för antikoagulationseffekten och utarbetade Thrombotest-metoden efter att ha funnit att Quicks protrombinindex och PP-metoderna inte var tillräckligt bra (12). Vid Rikshospitalet i Oslo byggde Owren upp en forskargrupp som 1956 befästes såsom "Institut for tromboseforskning", med ett flertal forskare som kom att märkas internationellt. Egebergs upptäckt 1965 av autosomt dominant ärftlig brist på antitrombin III som orsak till venösa tromboser öppnade vägen till exploration av trombofili. Arvid Hellem utvecklade en metod för trombocytadhesivitet och aggregation och kunde konstatera att adhesiviteten var beroende av flödes hastighet och att detta återspeglades i sänkt adhesivitet vid von Willebrands sjukdom, speciellt under hög flödes hastighet. Gaarder demonstrerade att ADP från erythrocyter var en faktor för ökad trombocytadhesivitet. Helge Stormorken fanns med i gruppen kring Owren. Han var veterinär och läkare med en blixtrande personlighet och ett rörligt intellekt. Under perioden 1963–1980 var han ledare för

trombosinstitutet. Stormorkens vetenskapliga verksamhet är lika vidsträckt som hans tankevärld: koagulopatier, trombocytfunktion, von Willebrands sjukdom, kininogen-kininsystemets interaktion med koagulationssystemet och fibromyalgi – allt fick plats. Ingående erfarenhet av denna vidsynthet fick jag då han var opponert vid min disputation.

Svenskt samarbete

Under Erik Jorpes tid som professor i medicinsk kemi i Stockholm fick svensk koagulationsforskning ett uppsving börjande med heparinrening, strukturbestämning och användning inom trombosbehandling och tromboprofylax samt som förutsättning för utveckling av hjärt-lungmaskinen. Margareta och Birger Blombäck kom 1951 till koagulationslaboratoriet på Karolinska Institutet. De arbetade med rening av fibrinogen, initialt för att detta behövdes för aktivitetsbestämning av heparinpreparat. Birger Blombäck var fångad av fibrinogenet. Han visade att fibrinogenet var en dimerstruktur bestående av två kopior av tre olika kedjor. Han identifierade med Edman-teknik de N-terminala aminosyrorna i fibrinogen och fibrin och visade att fibrinet hade andra N-terminala aminosyror än fibrinogenet i fyra av kedjorna. De tidigare kända fibrinopeptiderna A och B kunde helt sekvenseras med samma teknik. Dessa grundläggande strukturstudier med avsikt att kunna identifiera möjliga trombinhämmare ledde till syntes av kromogena substrat för proteolytiska enzym, som fått stor användning. Trombinhämmaren ximelagatran kom efter tjugo års fördröjning. Den fascinerande berättelsen om fibrinogenet med Birgers ord finns i referens (13). Birger var en inspirerande chef och diskussioner kom många gånger in på nödvändigheten att kristallisera fibrinogenmolekylen för att få strukturella detaljer med röntgendiffraktionsstudier som kunde förklara strategin för fibrinbildningen. Än så länge finns ingen kristall av humant fibrinogen som uppfyller alla kvalitetskrav!

I samband med den fysikalisk-kemiska fraktioneringen av plasma bestämdes även koagulationsfaktorer, inklusive det 1937 upptäckta antihemofila globulinet, faktor VIII, för vilken en bestämningsmetod kom 1951, och 1952 kunde faktor IX definieras och hemofilierna indelades i A och B. Faktor VIII-aktivitet bestämdes i fraktionerna och en sådan, F I-0, visade sig förutom avsevärt sänkt proteinnivå jämfört med plasma också

innehålla fibrinogen, och även faktor VIII i avsevärd mängd. Detta kunde utnyttjas som världens första renade preparat av faktor VIII för behandling av hemofili A i samarbete med medicinkliniken i Malmö (14). Kliniskt var man redan under tidigt 1950-tal aktiva i Malmö under den legendariske Jan Waldenströms ledning. Inga Marie Nilsson, som 1954 disputerat på en avhandling om heparinliknande antikoagulan i normalt blod och varit med om bestämningarna av faktor VIII i fraktionerna vid fibrinogenpreparationen i Stockholm, hade i Malmö en ung kvinna med "pseudohemofili" som blödde svårt och inte kunde behandlas med transfusioner. Preparatet F I-0 gavs och blödningarna kunde kontrolleras. Flera patienter undersöktes och förlängd blödningstid och sänkt faktor VIII konstaterades. Båda korrigerades efter infusion av F I-0 (15). Symtomen motsvarade den beskrivning som von Willebrand givit hos sina originalpatienter och fynden följdes upp även på Åland med bestämningar av faktor VIII och infusion av F I-0 till en patient, dock icke från originalfamiljen, med korrektion av blödningstiden och faktor VIII-nivån. En behandlingsmöjlighet för patienter med von Willebrands sjukdom var således upptäckt. Inga Marie Nilsson ledde som professor i klinisk koagulationsforskning 1965 framgångsrikt verksamheten som resulterade i ett högspecialiserat kompetenscentrum för blödningssjukdomar i Malmö. Margareta Blombäck ledde den kliniska delen av koagulationslaboratoriet i Stockholm, som 1966 flyttade till thoraxkliniken på Karolinska sjukhuset. Hennes engagemang i patienternas väl illustreras av att hon förespråkade profylaktisk behandling med faktorkoncentrat redan 1958. Hon baserade sig på fynd av Ahlgren och Ramgren om att faktorkoncentrationer över en procent av det normala sällan var förenliga med artropatiutveckling. Det var mycket bra att arbeta i koagulationslaboratoriet hos Margareta Blombäck. Medarbetare från andra kunskapsområden som arbetade vid laboratoriet bidrog till vidgat medvetande. Jan Svensson från professor Bengt Samuelssons grupp med insikter i och tekniska kunskaper om arakidonsyrametabolism och prostaglandiner samt ZP Zang som sekvenserade VWF-genen från en åländsk pojke med von Willebrands sjukdom typ III och många andra icke nämnda men icke glömda tillförde nya infallsvinklar. Jag minns särskilt den positivt laddade atmosfären i laboratoriet, frihet under ansvar och samtidigt uppgifter

som krävde ansträngning. En sådan var planeringen av substitutionsbehandling för en von Willebrandsjuk patient som skulle genomgå operation av aortastenosis.

Translationell forskningsframtid

Under tidsperioden efter von Willebrand fram till sekelskiftet har koagulationsvetenskapen utvecklats från att ha varit ett kunskapsområde för nördar till ett kunskapsområde för de övergripande områdena hemostas och trombos. De nordiska länderna har varit framstående i denna utveckling, som skapat kliniska och laboratoriebaserade institutioner till allmänt gagn. Dessa institutioner har varit exemplariska i sin tvärvetenskaplighet och sin globala kommunikation. Samarbete med industrin har varit viktigt och av avgörande betydelse för patientvården och även för forskningen. Allt är väl förberett för en intressant och betydelsefull framtid av forskning och klinisk tillämpning inom ämnesområdet. Samtidigt med kunskapsutvecklingen ökar dock risken för att området uppdelas i små isolat. Ur läkarsynvinkel är bibehållande av helhetsöversikt nödvändigt. Samarbete mellan laboratorium och klinik är här en nyckel till framtiden. Att som laboratoriebaserad koagulationist gå till kliniken för att träffa patienter och kolleger var en självklarhet – "kliniska visiter" var uppskattade på båda sidor och jag hoppas att de lever kvar.

Dag Nyman
dag.nyman@aland.net

Inga bindningar.

Referenser

1. Morawitz P. Die Chemie der Blutgerinnung. *Ergebn Physiol* 1905;4:307.
2. Glanzmann WE. Hereditäre hämorrhagische Thrombasthenie. Ein Beitrag zur Pathologie der Blutplättchen. *Jahrbuch für Kinderheilkunde* 1918;88:113.
3. Lane S. Haemorrhagic diathesis. Successful transfusion of blood. *Lancet*. 1840;35:185.
4. Virchow R. *Gesammelte Abhandlungen zur Wissenschaftlichen Medicine*. 1856, Meidinger Sohn & Co., Frankfurt.
5. Friedberg CK, Horn H. Acute myocardial infarction not due to coronary artery occlusion. *JAMA* 1939;112:1675.
6. Astrup T. The hemostatic balance. *Thromb Diathes Haemorrh* 1958;2:47.
7. Bang HO, Dyerberg J, Nielsen AB. Plasma lipid and lipoprotein pattern in greenlandic west coast eskimos. *Lancet*, 1971;1:1143.
8. Zilliacus H. On the specific treatment of thrombosis and pulmonary embolism with anticoagulants, with a particular reference to the post thrombotic sequelae. *Acta Med Scand Suppl* 1946;171:1-221.
9. Ikkala E. Haemophilia. A study of laboratory, clinical, genetic and social aspects based on known haemophiliacs in Finland. *Scapell* 1960.
10. Myllylä G, Vaheri A, Penttinen K. Detection and characterization of immune complexes by the platelet aggregation test. II. Circulating complexes. *Clin Exp Immunol* 1971;8:399.

-
11. Owren PA. Parahaemophilia. Haemorrhagic diathesis due to absence of a previously unknown clotting factor. Lancet 1947;1:446.
 12. Owren P. A. Thrombotest: New method for controlling anticoagulant therapy. Lancet 1959;2:754.
 13. Blombäck B. Travels with fibrinogen. JTH 2006; 8: 1538.
 14. Blombäck M, Nilsson IM. Treatment of hemophilia A with human antihemophilic globulin. Acta Med Scand 1958;161:301.
 15. Nilsson IM, Blombäck M, Blombäck B. von Willebrand's disease in Sweden. Its pathogenesis and treatment. Acta Med Scand. 1959;164:263.

Summary

Nordic pioneers in coagulation research

The evolution of laboratories for the esoteric science of coagulation into units for research, diagnostics and treatment of disorders of hemostasis and thrombosis has during the last 100 years post-von Willebrand been extraordinary, worldwide. This has been accomplished by expanding collaboration between basic research in chemistry and pathology with curiosity, inspiration and pragmatic sense of clinical need, resulting in clinical institutions for hemostasis and thrombosis working together with industrial undertakings. The local efforts were early on multidisciplinary as well as searching global collaboration. For the future this attitude and the clinical connection between laboratory and patient needs are still important.