

- Little KY, Clark TB, Ranc J, Duncan GE. Beta-adrenergic receptor binding in frontal cortex from suicidal victims. *Biol Psychiatry* 1993; 34: 596-605.
- May G, Sargeant M, McGuffin P, Whatley S, Marchbanks R, Baldwin D et al. The lymphoblast beta-adrenergic receptor in bipolar depressed patients: characterization and down-regulation. *J Affect Disord* 1993; 27: 163-72.
- Blier P, Bergeon R. Effectiveness of pindolol with selected antidepressive drugs in the treatment of major depression. *J Clin Psychopharmacol* 1995; 15: 217-22.
- Artigas F, Perez V, Alvarez E. Pindolol induces rapid improvement of depressed patients treated with serotonin reuptake inhibitors. *Arch Gen Psychiatr* 1994; 51: 248-51.

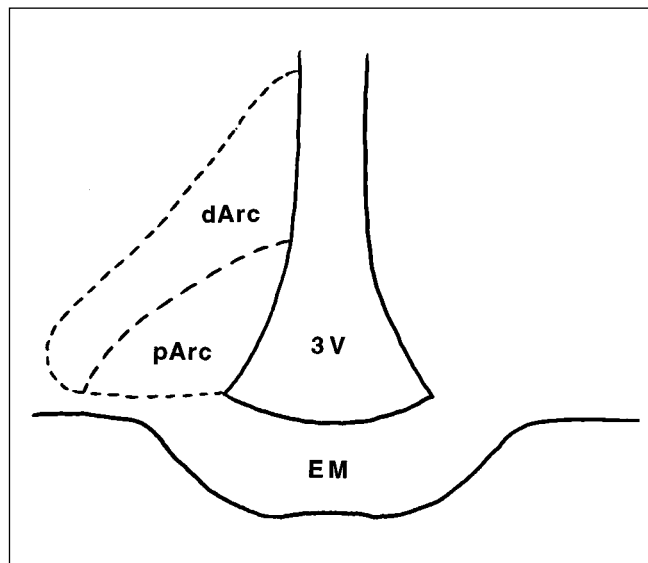
Leptin och obesitas – ett sakfel

Jag läste med intresse den sammanfattning av forskningen kring leptin och obesitas som Meister och Arvidsson publicerade i *Läkartidningen* 4/96 [1]. Betydelsen av arkuatuskärnan i hypothalamus belystes och jag skulle vilja kommentera ett sakfel i detta sammanhang. Det påstods att delar av arkuatus ligger utanför blod-hjärnbarriären (BHB) varför cirkulerande leptin kan påverka t ex de NPY-erga neuronerna där. Faktum är att arkuatus ligger innanför BHB, men att det närbelägna eminentia mediana saknar BHB. Därför kan cirkulerande ämnen diffundera in i arkuatus från eminentia mediana. Detta illustrerades (om än inte diskuterades) redan för snart tre decennier sedan då J W Olney visade att mononatriumglutamatoxicitet i arkuatus är relaterad till närheten av eminentia mediana [2].

Olney visade i samma arbete att behandling av neonatala möss med glutamat leder till obesitas. Att den dorsomediala delen av arkuatus är mindre känslig för cirkulerande glutamat (se Figur 4 i ref [1]) beror alltså huvudsakligen på att den ligger längre bort från eminentia mediana än de mer vulnerabla delarna.

Svårtolkad

Denna relation har bekräftats av många grupper inklusive vår [3]. Att glutamatbehand-



Figur 1. Arkuatuskärnan (Arc) kan indelas i en distal (dArc) och en proximal (pArc) del, där pArc utgör den del som är tillgänglig för cirkulerande hormoner, dvs ligger utanför BHB. EM = eminentia mediana och 3V = tredje ventrikeln.

ling leder till obesitas som inte är förknippad med hyperfagi [2] trots en total förlust av NPY-erga neuron [1] visar att denna modell är mycket svårtolkad.

Detta är inte oväntat, då djuren lider av multipla endokrina störningar orsakade av den stora förlusten av neuron i arkuatus/eminentia mediana. Man kan därför förvänta sig att de arkuatusneuron som ligger närmast eminentia mediana är de viktigaste måltavlorna för leptin.

Eftersom det knappast är troligt att ett protein som leptin kan diffundera några längre sträckor i hjärnans extracellulärrum är det kanske mer rimligt att anta att leptin verkar på de hormonsecernerande nervterminalerna i eminentia mediana.

Anders Lehmann

docent, institutionen för anatomi och cellbiologi, Göteborgs universitet, samt Gastrointestinal Pharmacology, Astra Hässle AB, Mölndal

Litteratur

- Meister B, Arvidsson U. Hormonet leptin minskar kroppsvikten. *Läkartidningen* 1996; 93: 247-51.
- Olney JW. Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. *Science* 1969; 164: 719-21.
- Lehmann A, Jönsson T. MK-801 selectively protects mouse arcuate neurons in vivo against glutamate toxicity. *NeuroReport* 1992; 3: 421-4.

genom kapillärer eller perikapillära rum är oklart. Klart är emellertid att den distala delen av arkuatuskärnan liksom en närliggande ventromediala kärnan är impermeabla för cirkulerande substanser. Sannolikt utgör de specialiserade gliacellerna (s k tancyter), som ligger tätt intill kapillärerna, det morfologiska underlaget för en barriär mellan den distala arkuatuskärnan och blodburna hormoner.

Omogen hos nyfödda

Några slutsatser rörande den vuxna arkuatuskärnans gräns för BHB är svåra att dra med hjälp av mononatriumglutamat (MSG)-modellen. BHB hos nyfödda djur är fortfarande omogen och de lesioner som ses efter neonatal MSG-behandling har större utbredning än dem som erhålls efter behandling av adulta djur. Dessutom krävs mycket högre doser hos adulta djur. Andra cirkumventrikulära organ, dvs områden utanför BHB, är också känsliga för MSG, dock i högre doser än dem som krävs för att framkalla lesioner i arkuatuskärnan [se 2]. Vår diskussion i artikeln rimmar väl med den i originalarbetet i vilket man beskriver leptinetts effekt på NPY-sekretionen från isolerad hypothalamus (inkluderande både NPY-innehållande cellkroppar och fibrer). Att leptin verkar på de hormonsecernerande NPY-innehållande nervterminalerna i eminentiamediana, som Lehmann föreslår, får ses som mer osannolikt, eftersom obesitasinducerande MSG-behandling leder till ett oförändrat antal NPY-fibrer i EM samtidigt som alla NPY-neuronen i arkuatuskärnan försvinner [3]. NPY-neuronen i arkuatuskärna har tidigare visats projicera sig till paraventrikuläriskärnan (PVN) och injektion av NPY i PVN-området framkallar ökat födointag. NPY-mRNA-expression i hypothalamus minskade efter kronisk leptinbehandling och leptin reducerade NPY-nivåerna från perifunderad hypothalamus [4].

Ett slutgiltigt svar angående leptinreceptorernas lokalisering kommer sannolikt erhållas inom kort, eftersom de nyligen klonats [5].

Björn Meister

docent,

Ulf Arvidsson

dr med; båda vid

institutionen för

neurovetenskap,

Karolinska institutet,

Stockholm

ANNONS

Litteratur

1. Shaver SW, Pang JJ, Wainman DS, Wall KM, Gross PM. Morphology and function of capillary networks in subregions of the rat tuber cinereum. *Cell Tissue Res* 1992; 267: 437-48.
2. Kizer JS, Nemeroff CB, Youngblood WW. Neurotoxic amino acids and structurally related analogs. *Pharmacol Rev* 1978; 29: 301-18.
3. Meister B, Ceccatelli S, Hökfelt T, Andén NE, Andén M, Theodorsson E. Neuropeptides, neuropeptides and binding sites in the rat mediobasal hypothalamus: effects of monosodium glutamate (MSG) lesions. *Exp Brain Res* 1989; 76: 343-68.
4. Stephens TW, Basinski M, Bristow PK, Bue-Valleskey JM, Burgett SG, Craft L, et al. The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. *Nature* 1995; 377: 530-2.
5. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, et al. Identification and expression cloning of a leptin receptor (OB-R). *Cell* 1995; 83: 1263-71.

PCR-tekniken för virus-screening bör förbättras

Orsaken till de fall av virusmitta som skett med plasmaläkemedel har inte enbart varit brister i befintliga virusinaktiveringssteg som Thomas Wahlberg antyder i *Läkartidningen* 51-52/95. Faktorer som också spelat in har varit avskiljning av plasma med antikroppar mot hepatit C-virus, (HCV) vilket lett till att balansen mellan virus och skyddande antikroppar förändrats, plasmaursprung, samt brister i Good Manufacturing Procedure (GMP), vilka lett till misslag vid tillverkning.

Absolut 100 procent säkra produkter kan aldrig bevisas. Detta gäller alla läkemedel. Varje risk måste bedömas individuellt för varje produkt och produktionsprocess. Den alltid återkommande frågan är hur stor risk vi är villiga att acceptera (risk-benefit), dvs vad anses tillräckligt säkert?

Olika PCR-test under utveckling

Användandet av polymerkedjereaktion (PCR) som teknik har marknadsförts som om det skulle vara en slutgiltig

lösning på säkerhetsproblemet med plasmaläkemedel. Detta är en alltför grov och enkelriktad framställning. Olika PCR-test är fortfarande under utveckling. I två stora europeiska undersökningar (kallade Eurohep) [1, samt N Lelie, pers medd 1996] har en häpnadsväckande stor diskrepans mellan deltagande laboratoriers resultat demonstrerats vid försök att detektera HCV. Bara en minoritet lyckades korrekt identifiera och verifiera virusmittade prov. Detta trots att dessa laboratorier har god PCR-erfarenhet och tillgång till väl definierade och validerade metoder.

Utveckling av internationella PCR-standarder är nödvändig. Exempel på en komplicerande faktor är att man har upptäckt flera olika HCV-genotyper. För att detektera dessa måste flera referensstandarder tas fram, eftersom nuvarande PCR-test bara känner igen enstaka virusstammar och inte verkar fungera på alla patogena varianter. Användning av en för enkel PCR-test kan medföra en falsk säkerhet vid negativt svar. Den största svagheten med PCR är annars att tekniken inte skiljer infektiösa från icke-infektiösa virus.

Med optimal känslighet detekterar PCR ca 1-10 nukleinsyramolekyler per provvolym. På grund av små testvolym innebär detta i praktiken detektionsgränser av 100 till 1000 nukleinsyramolekyler per mililiter. Den enda tillverkare av plasmaläkemedel som hittills har infört PCR-test har satt detektionsgränser på 500 nukleinsyraekvivalenter per mililiter. Ett negativt PCR-test innebär *inte* att det testade provet är fritt från virus utan att det innehåller <500 virusgenom/ml.

Ytterligare en dimension förs in om man vill extrapolera resultatet till hela den donerade plasmapåsens innehåll. Hur stor är sannolikheten att hela innehållet är sant fritt från virus då det testade lilla provuttaget är negativt, dvs innehåller <500 virusgenom/ml? Att genomföra PCR-test på varje donerad enhet är praktiskt svårt då stora tillverkare samlar in flera tiotusental enheter per vecka. Vid testning av plasmapooler kommer en virusmittad enhet att spädas ut med många icke kontaminerade enheter, vilket ytterligare minskar möj-

ligheten att detektera virus. Trots sin känslighet blir PCR-testets detektionsgräns starkt försämrad av denna utspädning.

Fler och bättre inaktiveringsmetoder

Diskussionen om plasmaläkemedels säkerhet är inte bara knuten till testning av plasmaråvara utan också till utvecklingen av än bättre virusinaktiveringsmetoder. I en framtid kommer vi att uppleva väl utvecklade, helt automatiserade och billigare varianter av PCR-test, till och med för flera virus samtidigt. Förhoppningsvis kan kostnaderna för dessa balanseras mot en motsvarande besparing genom att ersätta nuvarande antikropps- och antigen-test. PCR-test kommer inte att kunna ersätta virusinaktiveringsmetoder i produktionsprocesser, utan dessa måste kontinuerligt vidareutvecklas med fler och bättre inaktiveringsmetoder som skydd mot de virus som PCR inte förmår detektera.

Bertil Eriksson
fil dr, Pharmacia AB,
Stockholm

Litteratur

1. Zaaier HL, Cuypers HTM, Reesink HW, Winkel IN, Gerken G, Lelie PN. Reliability of polymerase chain reaction for detection of hepatitis C virus. *Lancet* 1993; 341: 722-4.

Replik:

För avvaktande inställning kan äventyra säkerheten

Bertil Erikssons kommentarer innehåller några punkter, där vi har samma åsikter:

– Hundraprocentigt säkra läkemedel kommer aldrig att finnas (vare sig de fraktioneras ur plasma, framställs med rekombinant teknik eller syntetiseras kemiskt).

– Säkerheten för plasmaläkemedel är främst beroende av respektive produkts virusinaktiveringsmetod(er).

– PCR-tekniken kan förbättras.

– Internationell PCR-standard är önskvärd (men kommer att kräva tid att utarbeta.)

Säkerheten för plasmaläskeddel bör dock inte äventyras genom en alltför avvaktande och konservativ inställning. Det finns inga internationella standarder för de olika tillverkningsstegen i fraktioneringsprocessen. Varje tillverkare måste granskas och bedömas för sig. Virusinaktiveringsmetoderna varierar påtagligt mellan producenter. I vårt land förefaller många användare av plasmaläkemedel att vara mindre oroade av att enbart solvent-detergentmetoden, som ju enbart oskadliggör höljeförsedda virus, används för de läkemedel som dominerar på marknaden. Allt tätare kommer nu rapporter om hepatit A-smitta, som orsakats av plasmaläkemedel, som virusinaktiverats med denna metod [1].

Snabb utveckling av PCR-tekniken

Utvecklingen för PCR-teknik går snabbt och standardiseringsprocesserna kommer ju alltid långt på efterkälken. Även beträffande PCR-metoder måste varje aktör i plasmaläkemedelsbranschen på ett seriöst sett visa relevansen och precisionen för den teknik man använder för virusscreening av plasmapooler och slutprodukter. Redan idag finns högkvalitativa metoder, som använder fler än en primer samtidigt, riktade mot stabila regioner av det aktuella virusgenomet. Att PCR-tekniken ännu har svårt att skilja levande och döda virus är ingen nackdel från säkerhetssynpunkt, men kan öka produktionskostnaderna.

Även om detektionsgränsen för något virus som testas med en aktuell PCR-metod skulle vara 500 virusgenom/ml, är ändå metoden 1 000 gånger känsligare än de alternativa immunologiska testen.

PCR-testning av plasmaprodukter håller på att bli ett krav ute i världen. Sålunda har redan FDA och Paul Ehrlich-institutet infört krav på PCR-testning i vissa sammanhang.

Myndigheter och experter verkar vara överens om att PCR-tekniken kommer att ytterligare öka säkerheten för plasmaläkemedel. Med förfinad teknik inom området i kombination med effektiva virusinaktiveringssteg borde maximalt säkra blod- och plasmaprodukter kunna framställas. Detta ger en grund för en fortsatt existens av en forsknings- och produktinriktad