

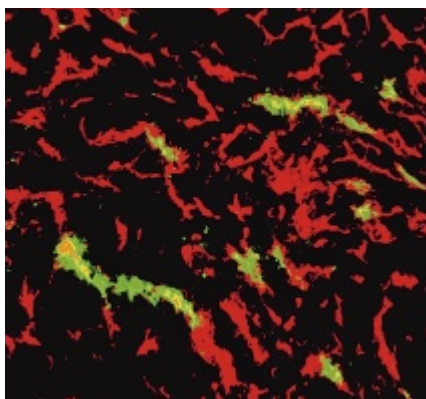
DNA-vaccination riktad mot blodkärlsbildningen fördröjer tillväxten av bröstcancer hos möss

autoreferat. Vaccination mot cancer är en attraktiv behandlingsmetod för att förhindra återfall i tumörsjukdom, och det första terapeutiska cancer vaccinet godkändes nyligen av den amerikanska läkemedelsmyndigheten FDA att användas för patienter med prostatacancer.

En ny princip för vaccination, DNA-vaccination, utvecklas för närvarande mot både infektionssjukdomar och cancer. Ett DNA-vaccin består av en gen som kodar för det protein man vill vaccinera mot. När vaccinet injiceras tas DNA tillfälligt upp av kroppens celler, som sedan producerar proteinet så att immunsystemet kan lära sig att reagera mot detta i samband med framtida eller pågående tumörsjukdom.

Nya studier inom cancerbiologi betonar tumören som ett kommunicerande organ bestående av flera olika celltyper, som tillsammans initierar och upprätthåller malign växt. Det tydligaste exemplet på detta är betydelsen av nybildning av blodkärl (angiogenes) för att förse tumören med tillräckligt med syre och näring för sin tillväxt.

Nyligen identifierades proteinet delta-like ligand 4 (DLL4) som en av nyckelaktörerna vid angiogenes genom sin roll att reglera att ett adekvat antal blodkärlsutskott bildas. Blockering av DLL4 i tumörer med antikroppar har visat sig leda till kraftigt ökad bildning av icke-funktionella blodkärl och där-



med dramatisk minskning av den totala genomblödningen av tumören.

Vi har DNA-vaccinerat möss mot DLL4, varefter tillväxten av två olika modeller av bröstcancer i ortotop lokal följts. Tumörerna i de vaccinerade mössen växte upp till 65 procent långsammare än i kontrollgruppen. Vaccinationen gav upphov till DLL4-specifika antikroppar, som i sig fördröjde tillväxten av bröstcancer när de användes för att behandla naiva tumörbärande möss. Kärlbädden i tumörer från vaccinerade

möss karakteriserades av ett överflöd av nybildade blodkärl, och mängden endotelceller i tumören ökade med upp till 75 procent jämfört med kontrollmössens tumörer. Trots detta minskade andelen funktionella kärl som genomströmmades av blod från 41 procent i kontrolltumörerna till 11 procent i behandlade tumörer.

Till skillnad från långtidsbehandling med DLL4-blockerande farmakologiska läkemedel, som har rapporterats ge upphov till toxicitet i lever, hjärta och hud, gav vaccination mot DLL4 inte upphov till några mätbara biverkningar och påverkade inte mössens förmåga till normal sårhäkning.

Vår studie pekar ut DLL4 som ett nytt och intressant mål för DNA-vaccination med syfte att förhindra återfall i bröstcancer. Då de grundläggande mekanismerna för bildning av blodkärlsutskott som DLL4 styr bör vara likartade i många tumörtyper är det vår förhoppning att ett fungerande vaccin skulle vara effektivt även mot andra tumörsjukdomar.

Kristian Haller

fil dr, institutionen för onkologi-patologi

Kristian Pietras

docent i tumörbiologi; institutionen för medicinsk biokemi och biofysik; båda Karolinska institutet, Stockholm

Haller K, et al. *Oncogene*. 2010. doi: 10.1038/onc.2010.176

Enskilda mRNA-molekyler kan påvisas och genotypas in situ

autoreferat. Vi har utvecklat en teknik som gör det möjligt att påvisa mRNA-molekyler i fixerade celler och vävnader med en upplösning som tillåter detektion av punktmutationer och allela varianter av enskilda mRNA-molekyler. Tekniken har publicerats i majnumret av *Nature Methods*. Med befintliga in situ-hybridiseringsmetoder är det svårt att detektera subtila men viktiga sekvensvarianter av mRNA, såsom enbaspolymorfier (SNP) och punktmutationer eller ensplitsvarianter.

Vi har därför utvecklat en in situ-analysmetod som utnyttjar mål-molekylberoende probecirkularisering (padlock probes) kopplad till en lokaliserad rul-

lande cirkel-amplifiering. I artikeln beskrivs hur denna detektionsprincip kopplades till en in situ-cDNA-syntes för att skapa effektiva substrat för DNA-ligering. Vi visar i artikeln att vi effektivt och robust kan detektera varianter av beta-aktintranskript som skiljer sig åt i en enda bas i fixerade celler och i vävnadssnitt från mus.

Vi utförde också expressionsprofilering av transkript av beta-aktin, TERT, Her-2 och c-Myc i odlade celler och visade att expressionsnivåer av dessa transkript kan uppskattas i enskilda celler i god överensstämmelse med qPCR-resultat. Slutligen detekterade vi en punktmutation i KRAS-transkriptet i cellinjeringer.

Vi tror att den presenterade tekniken kan komma att utgöra ett viktigt forskningsverktyg som gör det möjligt att studera allelisk expression i fixerade celler och vävnader.

Vi tror också att tekniken potentiellt kan få viktiga tillämpningar inom framför allt cancerdiagnostik eftersom tekniken i princip tillåter detektion av mutationer och förlust av heterozygositet även i tumörprov med låg tumörcellshalt.

Mats B J Nilsson

professor, institutionen för genetik och patologi, Rudbecklaboratoriet, Uppsala universitet

Larsson C, et al. *Nat Methods*. 2010;7:395-7.

Komplex genetik bakom autism

Den genetiska bakgrunden till autism är ett populärt forskningsområde, och under senare år har flera stora studier presenterats.

Nu publiceras en undersökning i tidskriften *Nature* som hör till de mest omfattande inom fältet. Studien har gjorts inom ramen för projektet Autism Genome Project Consortium, som omfattar 120 autismforskare i 11 länder, och bygger på genetisk analys av totalt 996 individer med en autismspektrumstörning och 1 287 friska kontroller.

Forskarna har tittat specifikt på antalet »copy number variants« (CNV), dvs sekvenser i genomet som finns i för många eller för få kopior, hos individer med autism. Man fann att individer med autism i genomsnitt hade 19 procent fler CNV än friska. Dessa CNV ärvs från föräldrarna; en minoritet har uppstått spontant hos individen. Författarna har funnit CNV kopplade till hundratals olika gener i den aktuella studien. Många av generna har tidigare kopplats till autism medan andra varit okända.

Intressant är att man har funnit flera gener som påverkar en och samma signalkaskad. En sådan är glutaminerg signalering, där man funnit CNV kopplade till gener som uttrycker proteiner centrala för glutaminerg signalering både pre- och postsynaptiskt. Det faktum att man funnit många olika CNV spridda i genomet stöder, enligt författarna, att varje individ med autism kan ha hundratals gener som bidrar till sjukdomen. Dessa gener kan skilja sig markant mellan olika individer med autism; sannolikt är det samma sak med schizofreni, tror författarna.

Att autism är ärftlig är välkänt. Det är för övrigt inte första gången som tidskriften *Nature* presenterar en omfattande genetisk studie kring autism. Under våren 2009 publicerades två undersökningar med 4 000 respektive 6 500 deltagare. I dessa identifierades områden på kromosom 5, 7 och 16 som särskilt intressanta. Författarna konstaterade även då att den genetiska bakgrunden till autism sannolikt är mycket komplex med många gener involverade.

Anders Hansen
läkare, frilansjournalist

Pinto D, et al. *Nature*. doi:10.1038/nature07999

Astrocyter deltar i synaptisk korttidsplasticitet

autoreferat. Synapsens effektivitet kan ändras över båda korta (millisekunder till minuter) och långa tidsspann (timmar till år) beroende på hur aktiviteten ser ut, tidigare aktivitet och närliggande synapsers aktivitet. Denna sk synaptiska plasticitet gör att synapser kan både bearbeta och lagra information.

Syftet med vår studie var att undersöka om astrocyter, den vanligaste celltypen i hjärnan, aktivt deltar i synaptisk korttidsplasticitet. Genom att mäta synaptiska strömmar i hippocampuskivor från rätta kan vi visa att synapser i hippocampus uppvisar en tidigare okänd depression, dvs en minskning av det synaptiska svaret efter kortvarig högfrekvent aktivitet (burst), som vi kallar post burst-depression (PBD).

Denna synaptiska depression beror på minskad sannolikhet för frisättning av glutamat och påverkar inte bara de aktiva synapserna utan också närliggande inaktiva grannar, ett fenomen som vi kallat transient heterosynaptisk depression (tHeSD). Genom att hämma astrocyternas energiproduktion block-

erades både PBD och tHeSD. Vidare kunde vi visa att PBD var beroende av kalciumsignalering i astrocyterna.

Slutsatsen är att astrocyterna har en viktig funktion i regleringen av synaptisk korttidsplasticitet genom att fungera som en negativ återkoppling efter högfrekvent kortvarig aktivitet i aktiva synapser och genom att minska sannolikheten för frisättning av neurotransmittor i närliggande inaktiva synapser.

Våra resultat bidrar till den begynnande insikten att astrocyter direkt kan påverka hur hjärnan bearbetar och lagrar information. Denna kunskap gör att man framöver i större utsträckning bör överväga astrocyternas roll när man letar efter orsaker till olika sjukdomar i hjärnan.

My Andersson

fil dr

Eric Hanse

professor; båda institutionen för neurovetenskap och fysiologi, Göteborgs universitet

Andersson M, Hanse E, et al. *J Neurosci*. 2010;30(16):5776-80.

Läkarstudenters minskande empati under utbildningen ifrågasätts

Flera tvärsnittsstudier och longitudinella studier har rapporterat att studenternas empati minskar under utbildningen. Dessa studier har använt sig av självskattningsskalor för att mäta empati.

En metaanalys [1] ifrågasätter dock dessa resultat. Alla elva studier som undersökt läkarstudenters empati utan någon intervention och som publicerats under 2000–2008 sammanställdes. Resultaten kodades tillbaka till skattningsskalors ursprungliga skalor för att kunna jämföras. Det visade sig då att effekter som uttryckts i form av aggregerade poängtal motsvarade endast mycket blygsamma förskjutningar på de ursprungliga skalorna. Vidare var bortfallet av svarande, i de fall detta rapporterats, så stort att några definitiva slutsatser inte torde kunna dras.

Psykometriska skattningsskalor har välkända svagheter och påverkas bl a av den svarandes självbild och den bild man önskar ge andra av sig själva. Där-

för undersöktes validiteten hos skattningsskalor för empati hos läkarstudenter i en annan studie [2]. Självskattad empati jämfördes här med skattningar utförda av lärare vid OSCE-prov (objective structured clinical examination), där studenter fått genomföra samtal med fingerade patienter under lärares överinseende. Korrelationen mellan självskattad och lärarskattad empati visade sig vara svag ($r=0,22$) men signifikant.

Sammanfattningsvis indikerar dessa nya studier att läkarstudenters empati inte nödvändigtvis minskar under utbildningen. Nya undersökningar med bättre metoder skulle krävas för att påvisa ett sådant samband.

Gustav Nilsson

med dr, läkare, institutionen för klinisk neurovetenskap, Karolinska institutet, Stockholm

1. Colliver JA, et al. *Acad Med*. 2010;85:588-93.
2. Chen DC, et al. *J Gen Intern Med*. 2010;25:200-2.

Tidigt ultraljud vid buktrauma avslöjar livshotande blödning

Vid trauma mot buken kan tidig och riktad ultraljudsundersökning vara av nytta för snabbare handläggning av cirkulatoriskt instabila patienter. Det krävs dock att utföraren genomgått specifik utbildning och träning. Dessa slutsatser framgår av SBU-rapporten »Tidig och riktad ultraljudsundersökning efter fysiskt trauma«, som publicerades den 16 juni.

I handläggningen av akut, svårt skadade patienter är tiden av central betydelse. En metod som utvecklats för att i tidigt skede hitta inre blödningar är FAST (focused assessment with sonography for trauma). Metoden är avsedd att användas på akutmottagningen av kirurg eller akutläkare med adekvat utbildning och träning så snart patientens luftvägar och andning säkrats. Hjärt-

säcken och buken undersöks enligt ett definierat schema, där syftet är att diagnostisera och/eller utesluta fritt blod i någon av dessa lokaler utan att behöva ta extra tid för transport till röntgen eller för att invänta ultraljudsläkare.

Hela undersökningen ska inte ta mer än 3–5 minuter och är både strålningsfri och icke-invasiv, till skillnad från de etablerade metoderna datortomografi (DT), diagnostiskt peritoneallavage (DPL) och laparotomi. I dagsläget anordnar flera länder – däribland USA, Turkiet och Australien – organiserade utbildningar i FAST, men i Sverige finns endast en organiserad sådan, vid Universitetssjukhuset i Linköping.

Den aktuella SBU-rapporten identifierade 21 kontrollerade observationsstudier, varav endast sju ansågs vara av tillräckligt hög kvalitet för att inkluderas. Studierna hittades efter en systematisk litteratursökning i medicinska databaser på studier gällande FAST efter trubbigt eller penetrerande trauma mot bälen. Patienterna var både vuxna och barn. Sammanlagt omfattades 3117 patienter, varav hälften ingick i en och samma studie. I de flesta fall studerades konsekutivt inkommande akuta patienter, som först genomgick FAST och sedan DT/DPL/klinisk uppföljning. Om patienten var cirkulatoriskt instabil utfördes först FAST och i regel laparotomi omedelbart därefter. Studier som använde enbart klinisk uppföljning

»Hela undersökningen ska inte ta mer än 3–5 minuter och är både strålningsfri och icke-invasiv, till skillnad från de etablerade metoderna ...«

exkluderades. Det visade sig tidigt att studier kring FAST-undersökning av hjärtsäcken i stort saknades, trots att sådan användning brukar nämnas i beskrivningen av metoden. Därför avser SBU:s slutsatser undersökning av fritt blod i buken.

Vid diagnostisering av fritt blod i bukhalan var sensitiviteten för FAST-metoden 69–100 procent, beroende på utförarens skicklighet. Specificiteten var genomgående hög: 96–100 procent. Nyttan med undersökningen bedöms vara störst för patienter med instabil blodcirkulation (systoliskt blodtryck ≤ 90 mm Hg) som, efter konstaterad blödning, då kan föras direkt till laparotomi utan att utsättas för strålning (evidensstyrka 3, dvs vetenskapligt begränsat underlag).

Det finns dock flera nackdelar med FAST. Exempelvis kan metoden inte diagnostisera/utesluta organskada eller retroperitoneala blödningar, som vid njurruptur eller bäckenfraktur, eftersom det vid dessa tillstånd ofta inte finns fritt blod i buken. FAST bygger även på visuell värdering, och träning krävs för att bedöma resultaten. De vetenskapliga studierna som granskades hade vidare kunnat vara av högre kvalitet, framför allt var tidslängden mellan ankomst och FAST/kontrollundersökningen ofta oklart angiven trots att denna kan ha påverkat tolkningen av undersökningsresultaten.

Givet att undersökaren har tillräcklig utbildning och träning kan FAST, enligt SBU, vara kostnadseffektiv eftersom merkostnaden är låg. Dock borde bland annat behovet av specifik utbildning och träning studeras och definieras närmare.

Karin Sundström
läkare, doktorand, Karolinska institutet,
Stockholm

SBU. Tidig och riktad ultraljudsundersökning efter fysiskt trauma. Stockholm: SBU; 2010. SBU Alert-rapport nr 2010-03. <http://www.sbu.se/sv/Om-SBU/Nyheter/Tidig-och-riktad-ultraljudsundersokning-efter-fysiskt-trauma/>