

PET - et redskab til at opnå insiderviden - III. Dyremodeller

Dyremodeller er nødvendige i moderne medicinsk forskning, men de repræsenterer etiske problemer

Af Aage Kristian Olsen Alstrup & Svend Borup Jensen

Dyremodeller spiller en afgørende rolle for moderne PET-forskning. Forsøgsdyrene er helt afgørende, når der skal udvikles og afprøves nye sporstoffer. Der er et tæt og frugtbart samspil mellem den prækliniske og den kliniske forskning, hvor de samme PET-skannere og skanningsprotokoller bruges til forsøg på såvel dyr som mennesker.

Dyremodeller er nødvendige

Dyremodeller er vigtige i udviklingen af nye behandlingsformer og medicin til mennesker. Sygdomme er ofte artsspecifikke, og menneskets sygdomme opstår derfor kun sjældent spontant hos dyr. Det bliver mere og mere almindeligt at skabe dyremodeller for menneskets sygdomme ved at genmodificere dyrene. Det har man med held kunnet gøre hos mus, siden teknikkerne blev udviklet i midten af 1980'erne. I 2007 modtog de tre forskere, Martin Evans, Mario Capecchi og Oliver Smithies, Nobelprisen i medicin og fysiologi for deres opdagelse af embryonale stamceller (ES)-teknikken til at skabe transgene mus. Teknikken gør det muligt både at indsætte fremmede gener og at fjerne eksisterende gener fra musens genom. Desværre virker ES-teknikken kun effektivt i mus, men kloningsteknikken har gjort det muligt at udføre transgene teknikker på andre dyrearter. Et eksempel er de kommende modeller for Alzheimers sygdom, som er under udvikling i grise. Specielt vil klonede og transgene grise være en fordel, da deres kropsstørrelse og organer er passende i forhold til PET-skannerens opløsning. Dyremodeller afspejler kun yderst sjældent alle aspekter af en sygdom hos mennesker. Derfor er det ofte nødvendigt at benytte flere dyremodeller for samme sygdom. Samtidig eksisterer der væsentlige forskelle mellem dyrearternes biologi, og derfor er det ofte også nødvendigt at benytte flere forskellige arter af forsøgsdyr.

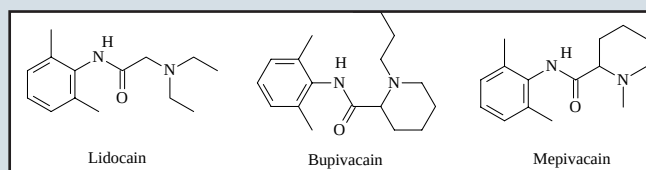
I 2003 udgav SBJ tre artikler til Dansk Kemi om Position Emissions Tomografi (PET) [1] i forbindelse med, at PET Centeret på Århus Universitetshospital havde 10-års fødselsdag. De handlede om, hvordan man med en cyklotron producerer stabile isotoper ^{11}C , ^{14}N , ^{15}O og ^{18}F , og hvordan man organisk-kemisk indbygger disse PET-isotoper i større molekyler. I denne serie gives eksempler på, hvad PET kan bruges til - nemlig til at opnå indsigt og viden om kroppens biokemiske processer *in vivo*.

Dyremodeller til afprøvning af nye sporstoffer

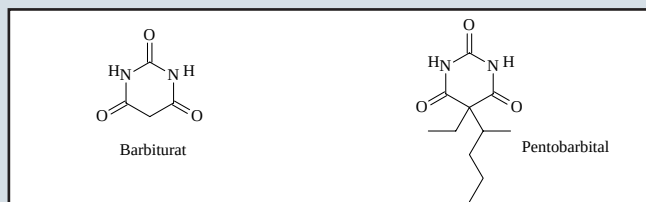
På PET Centeret i Århus foregår der løbende en udvikling af nye sporstoffer. Målet med disse sporstoffer er at udvikle nye redskaber til studier af dyr og mennesker samt til at diagnosticere sygdomme hos patienter. Dyreforsøgene er med til at besvare nogle grundlæggende spørgsmål, eksempelvis om det

Boks 1. Bedøvelse af dyr

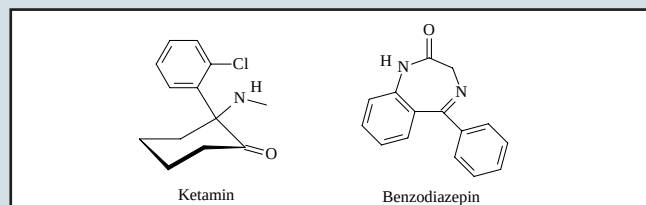
Bedøvelse af dyr ligner bedøvelse af mennesker, men der er forskelle. Rygmarvsbedøvelse bliver kun i mindre omfang brugt på dyr. De mest almindelige lokalbedøvende midler brugt på dyr er lidocain, bupivacain og mepivacain.



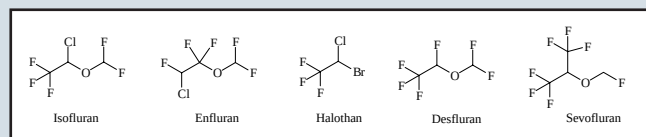
Ved bedøvelse af dyr er det vigtigt, at man sørger for bedøvelse af nervesystemet og afslappelse af musklerne. Af den grund bruger man ofte kombinationsprodukter, et stof der primært sørger for narkose og smertedækning, og et der sørger for, at musklerne er afslappede. Barbiturater virker på centralnervesystemet, et par eksempler er barbiturat og pentobarbital.



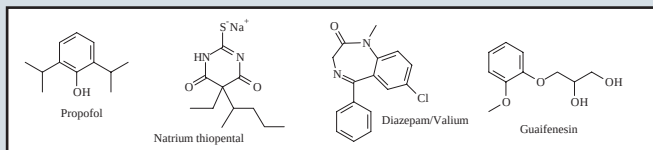
En del af de stoffer, der bruges i forbindelse med bedøvelse, bruges også af misbrugere, f.eks. benzodiazepiner og ketaminer.



Tidligere brugtes æter som bedøvelsesmiddel, men det har en del uheldige egenskaber, f.eks. er æter meget brandfarligt og giver gener efter opvågningen. I dag bruges ofte isofluran (2-chloro-2-(difluoromethoxy)-1,1,1-trifluoroethan), der gives som inhalation. Af andre gasser også brugt i veterinær sammenhæng er enfluran, halothan, desfluran og sevofluran.



Propofol er godkendt til human brug i mange lande, men bruges også til dyr. Propofol gives som intravenøs infusion. Der er mange stoffer at vælge mellem til bedøvelse. Formålet med bedøvelsen, hvor lang tid dyret skal være bedøvet samt dyrearten, skal tages i betragtning ved valget af bedøvelsesmiddel. Der er stoffer, som er specielt egnede til f.eks. katte og hunde (thiopental, ketamin/diazepam-blanding eller propofol), hvorimod guaifenesin udelukkende bliver brugt til heste.



nye sporstof bliver optaget i det organ, som det er påtænkt at undersøge. Dette er særlig problematisk for sporstoffer, der bruges til undersøgelser af hjernen, da der findes en blod-hjernebarriere, som effektivt beskytter hjernen mod fremmede stoffer. Ud fra størrelsen og ladningen af sporstof-molekylet kan man give et kvalificeret bud på, om et molekyle kan passere blod-hjernebarrieren, men det er kun ved *in vivo*-afprøvningen, man kan få et endeligt svar. Typisk tester man på bedøvede rotter eller grise, som på forhånd er placeret i PET-skanneren (billede 1). En klar indikation, på at et sporstof er ubrugeligt som et hjernesporstof, er, når skanningsbilledet viser et stort, sort hul på hjernens plads. I så fald ved man, at stoffet ikke formår at passere blod-hjernebarrieren, og så må et nyt sporstof designes.



Billede 1. En bedøvet gris i PET-skanneren. Respiratoren sørger for, at grisen trækker vejret og bliver holdt bedøvet med isofluran og lattergas. Den tynde slange til venstre i billedet bruges til at måle CO_2 -koncentrationen i udåndingsluften (ETCO_2), da denne skal holdes konstant og inden for normalområdet under skanningen af hjernen.

Alternativt, hvis stoffet passerer blod-hjernebarrieren, er næste skridt at undersøge, om der er specifik binding i hjernen, og i givet fald hvilke molekyler sporstoffet binder til. Dette kan man undersøge specifikt ved at skanne hjernen med sporstoffet to gange og mellem skanningerne give et stof, der specifikt blokerer enzymet eller receptoren og dermed hindrer sporstoffets binding (figur 1). Hvis der er en reduktion i binding fra første

Patenter | Varemærker | Kommerciel rådgivning

„Ingen jubler hvis markedsandelen skrumper“

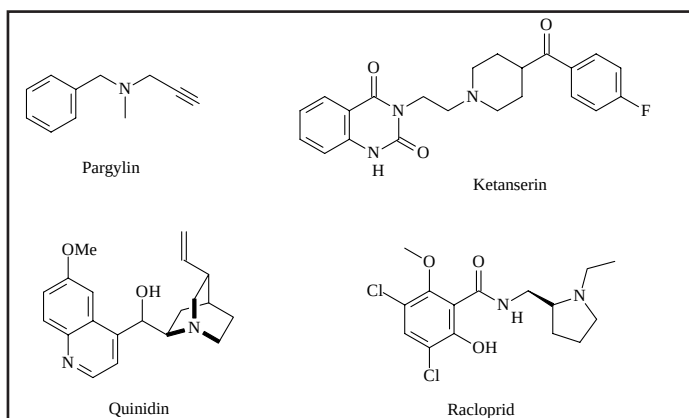
Patenter er en investering, der sikrer dig eneretten til din opfindelse og værner om din markedsposition. Beskyt din viden og optimér din konkurrenceevne. Den rette patentstrategi forvandler dine gode idéer til forretningsmæssige aktiver.

Chas. Hude A/S er blandt Danmarks førende virksomheder inden for rådgivning om Intellectual Property Rights (IPR). Vi beskytter, overvåger, håndhæver og forsvare immaterielle rettigheder for danske og udenlandske kunder. Chas. Hude blev grundlagt i 1896 og har i dag 90 medarbejdere. Mød vores kompetente profiler på www.chashude.dk

Steven Richard Kitchen,
European Patent Attorney

CHAS. HUDE

København | H. C. Andersens Boulevard 33 | 1780 København V | Telefon 33 19 34 00
Århus | Marselisborg Havnevej 36 | 8000 Århus C | Telefon 33 19 35 60 | www.chashude.dk



Figur 1. Fire eksempler på molekyler, der kan bruges til at blokere enzymer og receptorer under PET-studier af dyr. Pargyline blokerer monoaminoxidase-enzymet (MAO), quinidin blokerer bl.a. cytochrom P450 2D6-enzymet, ketanserin bruges til at blokere serotonin 5-HT₂-receptor, og racloprid bruges til at blokere dopamin D_{2/3}-receptorerne.

til anden skanning, må det skyldes sporstoffets binding til det pågældende enzym eller receptor. Ved systematisk at blokere de forskellige enzymer og receptorer en ad gangen kan man på denne måde kortlægge, hvad og hvor sporstoffet binder til. Dyreforsøgene skal også afklare, hvor hurtigt sporstoffet bliver nedbrudt i kroppen, og hvis sporstoffet skal bruges til skanning af mennesker, skal der laves dosimetri-forsøg i forsøgsdyr. Her bruges typisk rotter og/eller grise. Et dosimetri-forsøg går ud på at undersøge, hvordan radioaktiviteten fordeles i kroppen, og om nogle organer er specielt udsatte. Radioaktiviteten kommer både fra sporstoffet og dets nedbrydningsprodukter.

Begrænsninger ved dyremodeller

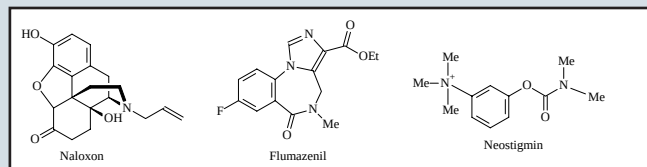
Det er ikke ualmindeligt, at man støder på afgørende artsforskelle mellem dyr og mennesker eller mellem forskellige dyrearter. Der er eksempelvis forskelle i hjerneoptagelsen af mange sporstoffer hos rotter og grise. Det kan i nogle tilfælde skyldes artsspecifikke pumper, der pumper sporstoffet ud af hjernen lige så hurtigt, som det diffunderer ind over blod-hjerne-barrieren. En anden udfordring ved PET-dyreforsøg er, at hjernerne hos små forsøgsdyr, såsom rotter og mus, ofte er så små (under 2 gram), at det er svært at se mindre strukturer. Der er nu udviklet mikroPET-skannere, der har en langt bedre rumlig opløsning end normale PET-skannere til mennesker. Et helt specielt problem ved dyreforsøg er, at dyrene er bedøvede under skanningen. Det kan undertiden føre til mistolkninger.

Bedøvelse af forsøgsdyr

I modsætning til mennesker, som kun yderst sjældent bliver bedøvet før en PET-skanning, er man næsten altid nødt til at bedøve forsøgsdyrene, fordi de ellers ikke ligger stille nok. Nogle japanske forskergrupper fikserer vågne forsøgsdyr i PET-skanneren, men det er stressfuldt for dyrene og derfor hverken velfærdsmæssigt eller videnskabeligt acceptabelt. Stress er ubehageligt, og samtidig påvirker det hjernen under forsøgene. Bedøvelse kan imidlertid også påvirke forsøgsresultaterne og i særdeleshed i studier af nervesystemet, som er et af de områder, der ofte undersøges med PET-skanning. Bedøvelsens indvirkning på forsøgsresultaterne er et område, hvor der mangler viden. Flere studier har vist, at hjernens stofskifte bliver stærkt nedsat under bedøvelsen. Det gælder eksempelvis ved bedøvelse med stoffet pentobarbital (boks 1). Det skyldes, at bedøvelsesmidlerne oftest hæmmer impulsoverførslen mellem neuronerne, og at hjernens aktivitetsniveau derfor falder under bedøvelsen. Inhalationsanæstetika som isofluran virker ved at hæmme

Boks 2. Stoffer der modvirker overdosering

Det kan være mere uforudsigeligt at bedøve dyr end mennesker, fordi man ikke har så stor erfaring med at bedøve f.eks. elefanter eller pytonslanger. Hvis det er ved at gå galt kan gives stoffer, der modvirker/ophæver effekten af bedøvelsesmidlet. Man giver naloxon for at modvirke effekten af opioider, flumazenil for at modvirke effekten af benzodiazepin, og neostigmin kan modvirke visse muskelafslapningsmidler.



Ovenstående stoffer gives også for at fremkalde en hurtigere opvågning.

de elektriske strømninger i neuronernes celleoverflade. Andre anæstetika som ketamin virker ved at hæmme frigivelsen af neurotransmittere, således at neuronerne kommunikerer mindre med hinanden. I begge tilfælde er effekten et nedsat stofskifte. Ud over at påvirke stofskiftet, hvilket bl.a. kan måles med PET-sporstoffet [¹⁸F] FDG, kan blodgennemstrømning (målt med [¹⁵O] H₂O), hjernens frigivelse af dopamin (målt med [¹¹C] racloprid) og mange andre variabler af betydning for studier af hjernen påvirkes. Det er dokumenteret, at den mængde dopamin, som et skud kokain frigør i hjernen, er betydeligt mindsket, når dyret er bedøvet. Bedøvelse er nødvendig for PET-skanning af dyr, men kan altså introducere en væsentlig fejlkilde.

Dyreetiske overvejelser

Forsøgsdyr er en forudsætning for vores moderne medicinske forskning. Alligevel kan og bør det diskuteres, om det er etisk forsvarligt at udføre forsøg på dyr. Det er dog efter vores opfattelse en formildende omstændighed, at PET-skanningsforsøg foregår på bedøvede dyr, og at langt de fleste bliver aflivet under bedøvelsen. Grunden til at man afliver dyrene er, at man vil undgå de gener, der er forbundet med at komme ud af anæstetien. I øvrigt er det et lovkrav, at forsøgsdyr skal aflives efter endt studium. Forsøgsdyrene oplever derfor for det meste kun det lille stik af en kanyle, når de bliver bedøvet, men må i sidste ende lade livet. Mere generelt bør der selvfølgelig ligge nogle dyreetiske overvejelser bag de enkelte dyremodeller, altså hvornår påvirkningen af dyrene er så stor, at vi ikke vil acceptere det.

E-mail-adresser:

Aage Kristian Olsen (dyrlæge): aage@pet.auh.dk
Svend Borup Jensen (kemiker): svend@pet.auh.dk

Referencer

1. Jensen S.B., 2003. PET - på Århus Kommunehospital - fylder rundt. Dansk Kemi nr. 9, 10 og 11.