

Større metodisk tilgang efterlyses i dyrestudier

Systematiske reviews og metaanalyser af dyreeksperimentel forskning viser vejen frem til bedre behandling

TEKST BIRGITTE KOUSHOLT¹ OG GREGERS WEGENER²

¹DYRLÆGE, PH.D., INSTITUT FOR KLINISK MEDICIN, AARHUS UNIVERSITET

²PROFESSOR, DR. MED., INSTITUT FOR KLINISK MEDICIN, AARHUS UNIVERSITET

I sundhedsvidenskabelig forskning anvendes dyr i forbindelse med medicinudvikling og som sygdomsmodeller, hvor (pato-)fysiologiske mekanismer undersøges, og behandlingsinterventioner afprøves. Dyreeksperimentelle studier udgør en væsentlig og betydelig del af funda-

mentet for fremtidige behandlingsstrategier og diagnosticeringsmetoder af patienter. Anvendelse af viden fra grundvidenskabelige studier betegnes som »translationel forskning«, hvor resultater fra den basale forskning (i denne kontekst dyreeksperimentel

forskning) medvirker til at videreudvikle forskning inden for et andet forskningsområde (i denne kontekst typisk klinisk sundhedsvidenskabelig forskning). Interaktionerne er typisk bilaterale, hvor fund fra klinisk forskning kan detailundersøges i de grundvidenskabelige modeller – hvilket betegnes »back-translation«.

På denne måde danner de dyreeksperimentelle studier det konkrete videnskabelige grundlag for medicinal- og medicoindustriens strategiske valg. De inddrages ved beslutninger om etablering af kliniske studier og dermed i sidste ende implementering af nye behandlingsmetoder i hospitalssektoren. Milliarder af kroner investeres på den baggrund i prækliniske dyreeksperimentelle studier, og der publiceres på verdensplan årligt mange tusind videnskabelige artikler baseret på dyrestudier. Sammenlagt er det en enorm mængde produceret og publiceret viden, der kan danne basis for fremtidige forskningsprojekter. Men spørgsmålet er, om det er tilfældet?

Særligt i løbet af det seneste årti har flere forskningsgrupper påpeget, at i afdekningen af publicerede dyreeksperi-

>



FOTO JESPER RAIS/AU KOMMUNIKATION

mentelle studier inden for forskellige forskningsfelter bør man have en mere systematisk tilgang^{1,2}. Værdien af de dyreeksperimentelle studier har endda været debatteret i internationale high-impact tidsskrifter – i et berettiget kritisk lys (The BMJ, The New England Journal of Medicine (NEJM), Lancet) – blandt andet som følge af publicerede systematiske reviews foretaget af dyreeksperimentel forskning³.

Definitioner

Kort fortalt er et *systematisk review* (SR) en grundig, transparent og struktureret litteraturanalyse af allerede publicerede studier. SR afdækker og fokuserer sædvanligvis på en bestemt hypotese eller på et givent konkret forsknings-

spørgsmål. På grundlag heraf udarbejdes en detaljeret søgestrategi, således at andre ud fra denne principielt burde nå frem til præcis samme dataset som originalforfatteren.

I modsætning til SR anvender det *narrative review* (NR) ikke på samme måde en systematisk søgestrategi-tilgang, og ligeledes stilles der ikke specifikke krav til den anvendte metodologi. NR er en oversigt over litteraturen, der baserer sig betydelig mere subjektivt på forfatterens egne erfaringer og egne holdninger, som så underbygges af relevante publicerede studier.

En *metaanalyse* (MA) kan være en del af det systematiske review og er en *statistisk sammenfatning* af resultater fra flest mulige videnskabelige undersøgelser af en afgrænset problemstilling, der kombinerer resultater fra uafhængige studier – resulterende i et overordnet effektestimater. MA har dog typisk ikke specifikke og systematiske krav til, hvilke studier der skal inkluderes.

Samme tilgang som i patientstudier

SR udføres i betydelig højere grad på patientstudier, men der er et udtalt

behov for samme tiltag inden for dyreeksperimentel forskning, idet der ofte fremkommer ganske interessante nye problemstillinger. Eksempelvis har O’Collins et al.⁴ i en større dyreeksperimentel SR redegjort for, at af 603 farmaka, hvoraf 374 efter afprøvning i dyremodeler for focal cerebral iskæmi, blev betegnet som »farmakon med særdeles stort potentiale«, viste en systematisk gennemgang, at af disse havde kun ét farmakon tilstrækkelig effekt i kliniske studier.

” Et ansvarligt forskningsinitiativ, som kaster lys over den kliniske relevans af dyreeksperimentelle studier, er hypotese-genererende og medvirker konstruktivt til at implementere 3 R i den sundhedsvidenskabelige forskning.

Oveni dette forelå der ingen underbygget information om, hvorvidt en generel kvalitetsvurdering af de prækliniske resultater lå til grund for, hvilke stoffer (97) der var udvalgt til at overgå til kliniske studier. Der forelå eksempelvis ikke et eller flere SRs som grundlag. Årsagen til dette kan være flersidig, men det siger sig selv, at det er et omfattende arbejde.

Desværre er udfordringerne i forbindelse med at arbejde systematisk i afdækningen af relevante dyreeksperimentelle studier mange. Først og fremmest er der ikke den samme tradition for systematiske reviews og metaanalyse inden for dyrestudier, som det kendes fra den kliniske forskning. Endvidere afviger metodologien for systematiske reviews af dyreeksperimentelle studier fra systematiske reviews og metaanalyser af klinisk forskning.

En af de problemstillinger, man møder i arbejdet med SRs, er, at det kan være svært at få overblik over alle publicerede studier, idet mange databaser skal gennemses – eksempelvis PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>), Embase (<http://www.embase.com/>), Web of Science (<http://webofknowledge.com/>), SCOPUS ([\[scopus.com\]\(http://scopus.com\)\) og Google Scholar \(<http://scholar.google.com>\). De to første databaser kan afsøges ved brug af systematiske søgeord, men det gælder ikke for alle databaser.](http://</p>
</div>
<div data-bbox=)

Når alle relevante studier er afdækket, skal de fremfundne artikler kvalitetsvurderes – et ofte betydeligt arbejde. Det er ikke en kvalitetssikring alene at anvende studier, der er publiceret i high-impact tidsskrifter, og ganske overraskende viser det sig, at mange af disse stiller forbløf-

fende få krav til oplysninger, der kan have indflydelse på de primære endepunkter. Fx følger kun få tidsskrifter anbefalede publikationsguidelines inden for området – fx the ARRIVE guidelines⁵. I disse guidelines er der fremsat anbefalinger

til klare beskrivelser for forsøgsomstændighederne, fx randomisering og blinding.

Relevansen af dette tydeliggøres af et studium publiceret af Rosenthal og Fode helt tilbage i 1963 og viser på elegant vis, hvor vigtigt dette er. Studiet omhandlede en kognitiv test af rotter, men var rent faktisk en test af forsøgspersonalet. På baggrund af informationen om to rottegrupper kognitive egenskaber givet til forsøgspersonalet på forhånd konkluderede forsøgspersonalet, at rotter allokeret til en bestemt gruppe, der blev betegnet som særligt kognitivt intelligente og socialiseringsmæssigt på et højere niveau sammenlignet med rotter allokeret til den anden gruppe, var kognitivt mere intelligente, mere omgængelige og havde en behageligere adfærd end rotterne i den anden gruppe. I virkeligheden var begge grupper af rotter ens og kom fra samme opstaldningsforhold lige ned til burkasseniveau⁶.

Det er også vigtigt at holde fokus på stammetype, der indgår i studierne (hvis der eksempelvis er tale om muse- eller rotteforsøg). Van Drongelen et al, har således påvist, at der er forskel på de mekanismer, der er involveret i drægtighedsinduceret

vasodilation i mesenteriearterier, som er afhængig af rottestamme. Derfor synes Wistar-rotten som en mere relevant model, når man ønsker at undersøge en normal graviditet, i forhold til Sprague-Dawley rotten, der er mere relevant, når man ønsker at studere patologiske omstændigheder 7. Det samme gør sig formentlig gældende for mange andre forhold.

Også en kvalitetsvurdering af selve forsøgsopsætningen har relevans, når dyreeksperimentelle studier skal vurderes som brugbare eller ej. Det er afgørende for en mulig translation til klinikken, at de dyreeksperimentelle studier, der indgår i grundlaget, er sammenlignelige med kliniske forhold. Det gælder blandt andet for tidspunktet for mulig intervention i relation til den undersøgte sygdoms indtræden og lægens mulighed for behandling deraf. Eksempelvis indgives farmaka i nogle dyreeksperimentelle studier før induktion af sygdom, svarende til at man havde givet en patient medicin, før patienten overhovedet var blevet syg.

Tilsvarende er det af afgørende betydning at overveje valget af det modelsystem, som man arbejder med. Sædvanligvis skal dyremodeller opfylde validitetskriterier (som fx face validity, construct validity og predictive validity), før de er gode at anvende og translaterbare. Den optimale dyremodel bør således 1) efterligne de menneskelige symptomer, 2) have samme årsag(er) og sygdomsmekanisme(r) som i mennesker og 3) udvise samme ændringer ved dosering med medicin, som de menneskelige sygdomme gør⁸.

Sammenfattende er der altså mange flere forhold, man bør have med i sine overvejelser end der almindeligvis bliver anvendt. Konklusionen er derfor, at der er plads til store forbedringer i vurdering af vores prækliniske studier – både for menneskets, dyrenes og pengepungens skyld. Ian Chalmers (fra the Cochrane Collaboration) omtaler det som »WASTE«, når man ikke får det fulde overblik over allerede publicerede studier inden for ens eget forskningsfelt: »WASTE - resulting from ignoring what is already known or already being researched«.

Han påpeger, at meget kan læres fra at forske i forskningsresultater ved hjælp af systematik – blandt andet systematiske



FOTO MARIA RANDIMA/AU KOMMUNIKATION

reviews og metaanalyser *per se*. Det vil derfor være en fordel i højere grad også at implementere dette inden for dyreeksperimentel forskning. Som nævnt indledningsvis har traditionen for dette været mindre inden for prækliniske studier, og det er en medvirkende årsag til den manglende translation af prækliniske studier til klinisk forskning. Der er ingen tvivl om, at beslutninger om translation bør træffes på et så solidt fundament som muligt.

Plads til forbedringer

Ovenstående dokumenterer, at der er betydelig plads til forbedringer – og at en del af forbedringerne bør ske, allerede inden kliniske forsøg igangsættes, eller nye dyreeksperimentelle studier igangsættes. Dette vil medvirke til at forbedre translationen og medvirke til, at kliniske studier iværksættes på et mere solidt grundlag. Desuden vil det medvirke til at forbedre beslutningsgrundlaget for tildeling af forskningsmidler.

Imidlertid vil det, ud over den gavnlige effekt på forskningskvaliteten og tildelingen af forskningsmidler, ydermere influere på den etiske problemstilling omkring at anvende forsøgsdyr. Det er forventeligt, at et initiativ som dette vil medvirke til at få implementeret en ansvarlig forskningspraksis i relation til implementeringen af de 3 R'er.

Forkortelsen 3R står for »*reduction, refinement and replacement*«, og begrebet blev første gang introduceret af Russel & Burch i 1959 i deres bog »The Principles for Humane Experimental

Den 17. og 18. november holder Aarhus Universitet i samarbejde med Danmarks 3R center et symposium, hvor internationale forskere inden for systematisk review og metaanalyser bl.a. vil debattere de udfordringer, som præklinisk forskning står over for.

Technique«. *Reduction* betyder, at man nedbringer antallet af dyr i forsøg, så man kun anvender det nødvendige antal forsøgsdyr. *Refinement* henviser til, at man forsøger at sikre, at forsøgsdyrene lider mindst mulig overlast og *Replacement* dækker det begreb, at man, såfremt det er muligt, forsøger at finde alternative metoder til at få afdækket sin hypotese og dermed undgår anvendelsen af forsøgsdyr. Ud fra disse definitioner er SR af dyreeksperimentelle studier både »refinement«, og følgelig vil det også mindske (»reduction«) antallet af forsøgsdyr, der indgår i nytteløse studier (duplikationsstudier) uden grund. Det vil altså sige, at SR er en fordel for både forskningskvaliteten og dyreetikken.

Heldigvis stiger antallet af systematiske reviews inden for dyreeksperimentel forskning allerede, og flere forskningsgrupper dukker op inden for dette felt og er med til at skabe internationale samarbejdsrelationer og uddannelse om metodik og udførelse af SRs og metaanalyser. Dette gælder for grupper såsom CAMARADES og SYRCLE. For Institut for Klinisk Medicin på Aarhus Universitet anses de systematiske reviews og metaanalyser også som bidrag til den ansvarlige forskningspraksis, som der generelt er særligt fokus på.

Symposium i november

I håbet om at få udbredt samarbejdsrelationer og uddannelse inden for feltet holder Institut for Klinisk Medicin på Aarhus Universitet i samarbejde med Danmarks 3R center et symposium/workshop »AUGUST« (Aarhus University Group for Understanding Systematic Reviews and Metaanalyses in Translational Preclinical Science). Her vil internationale anerkendte forskere inden for systematisk review og metaanalyser præsentere nogle af deres opdagelser og debattere de udfordringer, som præklinisk forskning står overfor, samt vise vejen for, hvordan disse udfordringer kan håndteres.

Fleere af de førende forskere inden for

feltet deltager, eksempelvis professor Malcolm Macleod fra CAMARADES (<http://camarades.info>), Edinburgh University og assistant professor Carlijn Hoijmanns fra SYRCLE (<http://www.syrclle.nl>), Radboud University Nijmegen, Holland.

Arrangementet finder sted den 17. og 18. november. Målgruppen er forskere inden for life science (dyrlæger, læger, og naturvidenskabelige kandidater) både med og uden erfaring inden for translational forskning (dvs. både seniorer og juniorer). Ligeledes er symposiet velegnet for medlemmer af lokale dyrevelfærdskomiteer, det statslige dyreforsøgstilsyn, 3R-interessenter og aktører i den medic-

nale og medicotekniske industri, samt bestyrelser for fonde, der uddeler midler til dyreeksperimentel forskning.

Det overordnede mål med symposiet er at anspore til en diskussion og samarbejde omkring systematiske reviews og metaanalyser inden for prækliniske dyrestudier. Navnlig med det mål for øje at styrke forskningskvaliteten, efterkomme og opfylde etiske overvejelser omkring 3R samt opnå en gennemgående translational gennemsigtighed af dyreeksperimentelle studier.

Program og tilmelding kan ske via følgende link <http://conferences.au.dk/august/> ■

Referencer

1. Hooijmans CR, Ritskes-Hoitinga M. Progress in using systematic reviews of animal studies to improve translational research. *PLoS Med.* 2013;10(7):e1001482. doi: 10.1371/journal.pmed.1001482 [doi].
2. Sena ES, Currie GL, McCann SK, Macleod MR, Howells DW. Systematic reviews and meta-analysis of preclinical studies: Why perform them and how to appraise them critically. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2014;34(5):737-742. doi: 10.1038/jcbfm.2014.28 [doi].
3. Pound P, Ebrahim S, Sandercock P, Bracken MB, Roberts I, Reviewing Animal Trials Systematically (RATS) Group. Where is the evidence that

- animal research benefits humans? *BMJ.* 2004;328(7438):514-517. doi: 10.1136/bmj.328.7438.514 [doi].
4. O'Collins VE, Macleod MR, Donnan GA, Horky LL, van der Worp BH, Howells DW. 1,026 experimental treatments in acute stroke. *Ann Neurol.* 2006;59(3):467-477. doi: 10.1002/ana.20741 [doi].
5. Kilkenny C, Browne W, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG, NC3Rs Reporting Guidelines Working Group. Animal research: Reporting in vivo experiments: The ARRIVE guidelines. *J Gene Med.* 2010;12(7):561-563. doi: 10.1002/jgm.1473 [doi].
6. Rosenthal R, Fode KL. The effect of experi-

- menter bias on the performance of the albino rat. *Behav Sci.* 1963;8(3):183-189. doi: 10.1002/bs.3830080302.
7. van Drongelen J, Hooijmans CR, Lotgering FK, Smits P, Spaanderman ME. Adaptive changes of mesenteric arteries in pregnancy: A meta-analysis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2012;303(6):H639-57. doi: 10.1152/ajpheart.00617.2011 [doi].
8. Belzung C, Lemoine M. Criteria of validity for animal models of psychiatric disorders: Focus on anxiety disorders and depression. *Biol Mood Anxiety Disord.* 2011;1(1):9-5380-1-9. doi: 10.1186/2045-5380-1-9 [doi].

Skriv en artikel til DVT

Dansk Veterinærtidsskrift er dit fagblad og modtager meget gerne kortere eller længere faglige artikler og debatindlæg skrevet af dig. Alle er velkomne til at skrive i bladet – blot indholdet er sagligt og har interesse for andre dyrlæger.

På www.ddd.dk finder du en forfattervejledning. Har du spørgsmål, kan du altid kontakte redaktionen på telefon 8371 0888 eller på e-mail: dvt@ddd.dk

