



UTKLASSAD LABBRÅTTA

Djurförsökens vara eller icke vara har länge varit en moralisk fråga. Nu har den blivit vetenskaplig. Nya provrörsmodeller och datasimuleringar har visat sig vara många gånger bättre på att förutspå effekterna av ett läkemedel. Men enligt myndigheterna är det fortfarande djurförsök som räknas.

Forts
på nästa
uppslag



I mikroskopet syns hur de små galtspermier raskt simmar omkring. Med hjälp av finkänslig teknisk utrustning går det att mäta hur snabbt och i vilka mönster de rör sig. Genom att tillsätta en viss substans kan man studera om de reagerar. Då kan man också se om de påverkas av att utsättas för olika läkemedelssubstanser. Förlorar de i fart eller börjar ta konstiga vägar kan man misstänka att en substans har en negativ effekt. Just i det här fallet är det cellernas kraftstationer, mitokondrierna, som är målet. Eftersom spermier har gott om mitokondrier kan de användas som rapportörer för om en substans påverkar dem.

- Traditionellt har vi använt material från lever eller muskelceller som preparerats från djur för att titta på mitokondriepåverkan. Nu har vi inlett ett samarbete med ett företag som använder galtspermier i avels-syfte och av det vi har sett hittills har de cel-

lerna en väldigt god korrelation med andra metoder, säger Ian Cotgreave.

Metoden med galtspermier testas just nu av Astrazeneca i Södertälje och är ett exempel på ett möjligt alternativ till djurförsök. Ian Cotgreave som berättar om försöket är chef för molekylär toxikologi på Safety Assessment på företaget och pratar gärna om metoder som kan användas som alternativ till djurförsök. Förutom sitt jobb på företaget har han suttit med i många av de offentliga forskningsnämnder som delat ut pengar till projekt inom området alternativ till djurförsök. Han har sin uppfattning klar.

- Att syssla med försöksdjursverksamhet är ingen enkel historia utan kräver stora resurser i form av pengar och kompetens. Allt som kan göras för att minska och förfinas dem är bra för försöksdjuren såväl som för industrin.

Enligt honom är det bara omkring en

tredjedel av de anställda inom preklinisk forskning på Astrazeneca som jobbar med försöksdjur, resten ägnar sig åt in vitro- och in silico-metoder, det vill säga datormodeller. Att redan innan en intressant substans är tillverkad kunna göra analyser om strukturanalyser och affinitet i datorn spar massor av tid och kraft åt företagen och man blir allt bättre på det.

- Ju mer information vi har och ju bättre testsystem vi kan skapa desto mindre blir risken att vi får en otrevlig överraskning sent i utvecklingsprocessen. Det betyder att vi också testar för vår egen skull, inte för att det är krav från myndigheterna.

NÄR EU-PARLAMENTET i september i år efter flera års valsande och debatterande klubbade unionens nya djurskyddsdirektiv var det många som upplevde det som ett antiklimax. Djurrättsförespråkarna

UTKLASSAD LABBRÅTTA



Med humana celler i provrören istället för djurceller kommer man närmare de faktiska effekterna på människa.

menar att det förslag som kommissionen ursprungligen hade hade vattnats ur, bland annat eftersom det inte blev något totalförbud mot apor.

- En stor brist är också att det saknas årliga minskningsmål, har man inga mål kan man inte uppnå dem. Det finns en gammaldags tro på att djurförsök är bra och pålitliga i forskarvärlden vilket gör att det inte minskar tillräckligt snabbt, säger Carl Schlyter, miljöpartistisk EU-parlamentariker som är en av de besvikna.

En annan kritik mot direktivet handlar om den formulering som beskriver när man måste ersätta djurförsök med alternativa metoder. Exakt hur formuleringen ska tolkas är nu upp till medlemsländer och myndigheter att komma fram till.

- Enligt vår tolkning innebär det att bara tretton procent av alla djurförsök inom EU måste ersättas med djurfria metoder, säger Cecilia Clemedson neurotoxikolog och ordförande i Forska utan djurförsök, en forskningsstiftelse som jobbar med att stötta forskning som syftar till att ersätta djurförsök.

DJURFÖRSÖK HAR LÄNGE VARIT en fråga som engagerar. Även om det idag är sällsynt med våldsamma attacker här i Sverige ser det värre ut i andra länder där företrädare för läkemedelsindustrin fått bomber i brevlådan. Att de riktigt aggressiva tongångarna är mindre vanliga här förklaras med att man öppnat för diskussion, både från industrins och från akademins sida. Enligt en undersökning som gjordes av Vetenskapsrådet 2007 tycker sju av tio svenskar att djurförsök är okej om syftet är att bota sjukdomar.

- Jag upplever att positioneringen på många sätt har försvunnit och det är ett bättre diskussionsklimat mellan forskare, industri och djurskyddsgrupper idag. De flesta vill samarbeta för att hitta bättre alternativ. Att det dessutom kommer fler studier som pekar på att djuren inte alltid är helt bra som testmodeller bidrar till att vi vill gå åt samma håll, säger Cecilia Clemedson på Forska utan djurförsök.

»Idag är alternativa metoder inte längre bara något som demonstrerande bönatäre ägnar sig åt utan ett måste för ett läkemedelsföretag med självaktning.«

Och det kanske inte är lagböckernas paragrafer som kommer att styra utvecklingen av djurfria metoder utan tekniken och vetenskapen. Just aspekten att djur som testmodell inte är optimal är en av de drivkrafter som gör att industrin själv nu aktivt är på jakt efter nya metoder och som gör att djurförsök ifrågasätts av andra än djurrättskämparna. När den politiskt obundna organisationen Forska utan djurförsök bildades 1961 var de i princip ensamma om att ge pengar till den typen av forskning. Idag är alternativa metoder inte längre bara något som demonstrerande bönatäre ägnar sig åt utan ett måste för ett läkemedelsföretag med självaktning.

Anledningen är att hur ett läkemedel metaboliseras, administreras och elimineras hos oss människor i hög utsträckning beror på vilka uppsättningar av receptorer, transportproteiner och enzymer vi har, något som vi idag vet kan skilja sig mellan människor och där det definitivt finns stora skillnader mellan en mus och en människa.

- Vissa modeller är helt enkelt inte särskilt prediktiva. När du gör ett toxicitetstest på en råtta är överensstämmelsen med människa ungefär femtio femtio. Du skulle alltså lika gärna kunna singla slant, säger Raimund Strehl, cellbiolog och chef technical officer på Cellartis.

Han är en av de som bakom stora fönster på en trädbeklädd höjd i Göteborg jobbar på företaget. Sedan starten 2001 har de arbetat med att odla stamceller för medicinskt bruk och har en vision om att just

kunna skapa miljöer så lika människa som det bara går. En del handlar om regenerativ medicin men en viktig bit är läkemedelsutveckling. Idag har de samarbeten med företag som Pfizer, Novo Nordisk och Astrazeneca. Det som är en av Cellartis specialiteter är att odla fram olika celltyper från embryonala stamceller som har sitt ursprung i donerade befruktade ägg från IVF-försök. Just nu har de två kommersiella produkter i form av hepatocyter och kardiomyocyter.

- Tittar man på hjärtmuskelcellerna i mikroskåp kan man se hur de spontankontraherar, som ett litet minihjärta, berättar Peter Sartipy, senior scientist och projektledare på företaget.

Vissa avgörande tester som påverkan på hjärta eller foster-skadande effekter kan idag bara göras i djur eftersom tillgången på mänskliga vävnadsprover är starkt begränsad. Det är också etiskt omöjligt att låta en gravid kvinna pröva ett preparat för att se vad som händer. Att då kunna skapa sitt egna hjärta eller lever för tester är för många en våt dröm. Även om vägen dit fortfarande är hyfsat lång så är det inte är helt science fiction. Försök pågår runt om i världen om att få stamceller att bli åtminstone organliknande. I ett samarbete med Astrazeneca och universitetet i Utrecht har man nyligen jämfört kardiomyocyter från Cellartis med hjärtceller från kanin och konstaterat att egenskaperna stämmer väl överens.

- Det är ett stort steg för oss att kunderna nu börjar köpa och testa våra produkter i sina egna laboratorier och jämföra med befintliga metoder. Först då kan vi få ett kvitto på om de fungerar i stor skala, säger Johan Hyllner, företagets forskningschef.

I HISTORIEN FINNS DET gott om skräckexempel när det trots gedigna försökssystem har blivit fel. Ett exempel som fortfarande är färskt är de misslyckade försöken med antikroppen TGN1412. Den hade man testat till och med på apor innan fas I-studien



Djuren i människans tjänst

Djur har i alla tider fått finna sig i att stå i den nyfikna människans tjänst som studieobjekt. Ett känt exempel är Luigi Galvani som på 1790-talet använde grodor för att konstatera att muskler påverkas av elektriska impulser. Djuren har, beroende på art, ansetts vara så pass nära oss som

biologiska system för att ge värdefull information och på tillräckligt långt avstånd för att de ska kunna offras. Idag, när djurförsök är standard inom bland annat läkemedelsutveckling och kemikalieforskning, är det till skillnad från för några hundra år sedan, knappast någon som

tvekar på att djur kan känna lidande.

Parallellt med att användningen av försöksdjur systematiserades växte också motståndet och det var ingen slump att djurrättsorganisationer fick ett uppsving på 60- och 70-talen i Sverige, samtidigt som vi hade en blomstrande läkemedelsindustri.



ISTOCKPHOTO

UTKLASSAD LABBRÅTTA

Många alternativa tekniker till djurförsök finns redan, men det är dyrt och svårt att få dem validerade av myndigheterna.

startade. Men de sex frivilliga försökspersonerna fick så kraftiga påslag av immunförsvaret att de drabbades av livshotande biverkningar. Ett annat klassiskt exempel är neurosedynskandalen på 60-talet. De toxiska effekter som läkemedlet hade på människofoster hade inte visats sig i de utförda djurförsöken och följderna blev katastrofala.

- Även som man gav en råtta 600 gånger

3R är ramverket

3R står för reduce, refine och replace. Begreppet lanserades 1959 av Bill Russel och Rex Burch som ville skapa debatt om mer humana experimentmetoder.

»**Replace** syftar till att helt ersätta ett djurförsök med annan teknik.

»**Reduce** minskar antalet djur som behövs bland annat genom förfinade provtagnings- och analysmetoder som kräver mindre volymer av till exempel blod.

»**Refine** kan vara förbättrad djurhållning som ökar djurens välbefinnande.

så mycket av ämnet talidomid som man gav människa så syntes inte de fosterskadande effekterna. Det finns bland annat en viss typ av kanin där de hade märkts men den hade man inte testat på just i det här fallet, säger Raimund Strehl.

VID DET HÄR LAGET är det lätt att fråga sig varför man testar substanser som ska användas i människa på djur överhuvudtaget? Svaret ligger i att det är med djurförsök som referensbibliotek och testpaket har utformats, det är här datamängderna finns. Enligt de regulatoriska kraven ska man testa sina substanser på två arter av däggdjur, om de anses relevanta, innan man kan ge substansen till människa. Ofta använder man sig av en gnagare och hund. Idag finns det för säkerhetstestning inom läkemedelsutveckling bara ett fåtal in vitro-tester som är helt godtagbara som ersättningar till djurförsök.

- Det finns några olika in vitro-tester i preklinisk där man gör riskvärderingar baserade på studier som inte är gjorda på djur, framför allt inom området gentoxicitet. Inom andra områden behövs mer utvärd-

ering av alternativa metoder innan myndigheterna kan godkänna dem och det är framförallt ett arbete som måste ske globalt, förklarar Ulla Wändel-Liminga, ämnesområdesansvarig farmakologi och toxikologi på Läkemedelsverket.

Hon syftar till det som är ett återkommande argument; för att nya metoder ska accepteras av regulatoriska myndigheter krävs att de testas och valideras i stor skala och under lång tid. På ett europeiskt plan pågår det samarbeten för att dels utveckla men också validera nya alternativa metoder. Rent fysiskt finns sedan 1992 EVCAM, EU:s eget center för validering av alternativa metoder, beläget i Italien. I USA finns det motsvarande ICCVAM. Men att få en metod godkänd av myndigheterna liknas vid att få ett läkemedel på marknaden. Från första försöken på ett enskilt labb till införande i till exempel OECD:s riktlinjer för testning kan det ta 10 till 15 år.

- Ett företag kan alltid komma till oss på rådgivning innan sin ansökan och fråga om en viss alternativ metod är godtagbar så gör vi en bedömning i det specifika fallet, säger Ulla Wändel-Liminga.

Så för att nya metoder ska accepteras måste de prövas, men för att de ska bli aktuella för validering måste läkemedelsutvecklarna pröva dem - samtidigt som de gör sina standardpaket med djurförsök. En onödig investering för en redan kostnadstyngd industri kan tyckas. Men just tack vare rädslan att misslyckas och den inneboende osäkerheten med vissa djurförsök så tycks det finnas en drivkraft hos både företag och akademi att satsa på nya och mer sofistikerade metoder. Med hjälp av cellmodeller skulle man kunna låta ett potentiellt läkemedel metaboliseras av humana leverceller och sedan koppla det till en odling med hjärtceller. Det skulle kunna ge värdefull kunskap om vilka effekter metaboliterna har på hjärtat. Om företagen skulle kunna förutsäga eventuella negativa biverkningar på hjärta- och kärl skulle de spara enorma pengar på att stoppa produkten i god tid innan klinisk prövning och dessutom undvika både mänskligt lidande och dålig publicitet. Historier som med det indragna diabetesläkemedlet Avandia kanske inte skulle ha behövt hända. Samtidigt har vissa djurförsök som tidigare var standard nu slutat användas eftersom de visat sig inte ge någon adekvat information. Ett exempel är de tidigare obligatoriska LD50-värdena som fastställdes genom att en substans gavs till ett antal djur, ofta råttor eller kanin, för att se vid vilken dos häften av djuren dog. Nu görs tester för akut toxicitet istället på celler.

Ytterligare ett exempel som man tittar på hos Astrazeneca är en form av en konstgjord magtarmkanal. För att ett läkemedel ska vara praktiskt användbart vill man gärna att det ska gå att ta i tablettform. Det betyder att ett grundläggande krav är att det inte ska brytas ner i magtarmkanalen innan de tagits upp av kroppen. Genom att återskapa miljön i magsäck och tarmar i provrörsmodeller och utsätta läkemedlet för de påfrestringar som sker där kan man få uppgifter som det annars krävs djur för. Utrustningen finns i engelska Alderlay Park och minskar enligt företaget antalet hundar med omkring 40 procent.

Arbetet med teknik som kan ersätta eller reducera antalet djurförsök går generellt under benämningen 3R. De tre r:en står för reduce, refine och replace som syftar till att hitta metoder som ersätter, reducerar antalet eller förfinar experiment på djur. Och det pågår alltså en hel del olika projekt runt om i Sverige på temat. På Karolinska pågår ett projekt med bland annat Magnus Ingelman-Sundberg där man med hjälp av

»Tack vare rädslan att misslyckas och den inneboende osäkerheten med vissa djurförsök så tycks det finnas en drivkraft hos både företag och akademi att satsa på nya och mer sofistikerade metoder.«

en bioreaktor skapar en leverliknande miljö för att testa toxiciteten av substanser. I ett samarbete mellan bland annat Lunds universitet och Karolinska institutet har man genom att testa ett läkemedel på cellodlingar från vävnadsprover från gravida kvinnor kunnat undvika vissa av djurförsöken. I Uppsala jobbar forskaren Per Artursson med kollegor med att undersöka substansers så kallade ADMET-egenskaper, det vill säga absorption, distribution, metabolism, elimination och toxicitet i olika in vitro och in silicomodeller. Han ligger bland annat bakom absorptionsmodellen Caco2 som med celler helt kan ersätta vissa djurförsök för att prediktera upptag av läkemedel som administreras oralt. De har också tillsammans med Uppsala University Innovation satt upp en plattform, UDOPP, som ger andra möjlighet att testa en substans ADMET-egenskaper med dessa metoder.

- Det är ett sätt att dela med sig till andra forskargrupper och till företag av det vi har kommit fram till, säger Per Artursson, professor i läkemedelsformulering.

För ett antal år sedan upptäckte forskare att man också kan få fram stamceller genom att ta andra celler, till exempel från hud, och manipulera dem så att de går tillbaka till att bli stamceller. Fenomenet kallas inducerade pluripotenta stamceller, iPSC, och är en revolution inom stamcellsforskningen eftersom det innebär att i princip vilken cell som helst kan fås till att bli en stamcell. Här är förhoppningen att man också ska kunna ta fram celler som uttrycker vissa sjukdomar och testa substanser på dem.

MEN ATT BARA LITA på marknadskrafterna och forskarnas goda vilja räcker inte menar vissa. Cecilia Clemedson skulle gärna se ett svenskt center för 3R-forskning och en myndighet med tydligt ansvar. Efter att Djurskyddsmyndigheten efter bara tre år

lades ner 2006 har ansvaret valsat runt en del. Nu är det Vetenskapsrådet som delar ut pengar märkta till 3R men de har fått kritik för att årets anslag inte utlystes tydligt nog. Ian Cotgreave som också är medlem i Vetenskapsrådets forskningskommitté för 3R håller med om att vissa grupper förmodligen tappade styrfart när frågan blev hemlös.

MEN NÅGRA UTROTNINGSHOTADE labbråttor lär vi inte få se de närmaste decennierna. Trots all forskning så är det inte många som idag tror på en helt djurfri läkemedelsutveckling. Förklaringen ligger i att det trots olikheter ändå är en helt annan sak att prova en substans i ett levande djur med alla organ och de fysiologiska fenomenet det innebär. De har en komplexitet som inte går att få i en cell- eller vävnadsmodell.

- Jag citerar gärna nobelpristagaren Arvid Carlsson som säger att »Det är inte möjligt att förstå formen och funktionen av en byggnad bara genom att studera byggstenarna«. Mycket går att ersätta men till sist måste man gå in i en djurmodell för att få hela bilden, säger Ian Cotgreave. ✕

PETRA HEDBOM

Djurförsök i siffror

300 000

försöksdjur användes enligt den europeiska definitionen i Sverige 2007 enligt uppgifter från Jordbruksverket.

15%

av dessa gick till läkemedelsindustri.

40%

till universitet och högskola.

45%

till andra företag och myndigheter.

Inom läkemedelsindustrin var...

40 000 möss

33 000 råttor

870 hundar

750 marsvin

338 kaniner