

Hunde med spontan cancer indgår i translationel forskning

Betina Børresen¹, Malene Martini Clausen^{1,2,3,4}, Anders Elias Hansen^{1,2,3,5}, Kamilla Westarp Zornhagen^{1,2,3,4}, Annemarie Thuri Kristensen¹, Svend Aage Engelholm⁴ & Andreas Kjær^{2,3}

STATUSARTIKEL

1) Institut for Klinisk Veterinær- og Husdyrvidenskab, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet
 2) Cluster for Molecular Imaging, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet
 3) Klinik for Klinisk Fysiologi, Nuklearmedicin og PET, Rigshospitalet
 4) Radioterapiklinikken, Rigshospitalet
 5) Institut for Mikro- og Nanoteknologi, Danmarks Tekniske Universitet

Ugeskr Læger
 2014;176:V01130041

Succesfuld udvikling af nye diagnostiske og behandlingsmæssige strategier inden for den humane onkologi kræver en række prækliniske og kliniske forsøg, inden de kan implementeres.

In vitro-forsøg er reproducerbare, hurtige og relativt billige, men afspejler ikke den komplekse biologi, der danner grundlag for cancer hos mennesker. I de eksperimentelle modeller indgår typisk implantede humane xenografftumorer på mus eller rotter, og faktorer som patientens immunkompetence, komorbiditet og intratumorale fænotypiske heterogenitet adresseres kun begrænset. Dette komplicerer skridtet fra forsøg med mus og rotter til de tidlige faser af kliniske forsøg. Problemstillingen kommer blandt andet til udtryk under udviklingen af nye kemoterapeutika, der udviser lovende resultater præklinisk, men som fejler i de kliniske forsøg ofte som følge af manglende effekt eller en ikke tidligere udvist toksicitet [1-4].

Dyremodeller, der bedre repræsenterer human sygdom, og dermed kan fungere som bindeled mellem de eksperimentelle modeller og mennesker, er derfor ønskelige for at fremme udviklingen af diagnostik og behandling af humane patienter.

HUNDEN SOM MODEL FOR HUMAN CANCER

Komparativ onkologisk forskning tager udgangspunkt i spontan cancer hos dyr som model for den tilsvarende sygdom hos mennesker [5]. Hundecancer-

patienter er i denne relation en unik mulighed for synergi mellem human og veterinær cancerforskning.

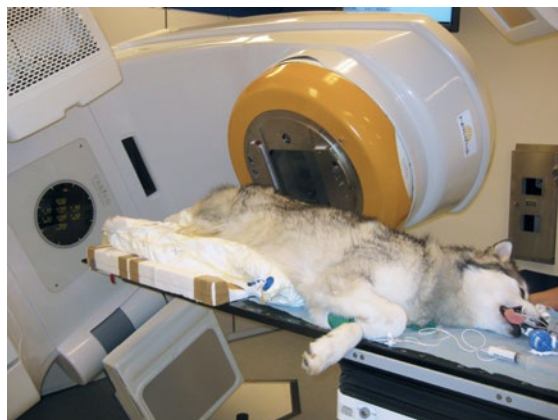
Privatejede hunde med spontant udviklet cancer har potentiale til at fungere som det ønskede led mellem de eksperimentelle musemodeller og humane kliniske studier [6]. Ud fra et biologisk synspunkt er der store ligheder mellem cancer hos mennesker og cancer hos hunde. Nye undersøgelsesteknikker og behandlingsmetoder kan således evalueres realistisk hos hunde med resultater til gavn for både mennesker og dyr.

Cancer hos de veterinære patienter udvikles spontant i et syngent miljø. I modsætning til immun-kompromitterede eksperimentelle modeller ses der den samme interaktion mellem cancerceller og stromalt væv som ses i heterogene tumorer hos mennesker. Hunde bliver udsat for mange af de samme miljømæssige risikofaktorer som mennesker, hvilket potentielt bidrager til udviklingen af cancer. Samtidig er cancerforløbet med lokal genvækst, metastasering og terapiresistens som årsag til morbiditet og mortalitet meget lig det, der gælder for mennesker. Mange veterinære cancerpatienter vil på diagnosetidspunktet have en biologisk alder, der svarer til de humane patienters, og kan også have betydelig komorbiditet og aldersrelaterede lidelser [7].

Tumorer hos hunde adskiller sig væsentligt fra eksperimentelle modeller ved at være genetisk og fænotypisk heterogene med store variationer i det intratumorale miljø. Derudover er det molekylærbiologiske grundlag for udvikling af human cancer samt flere af de specifikke terapeutiske targets, såsom *p53*-mutationer, *BRCA*-mutationer i mammatumorer og tyrosinkinase-receptormutationer, også erkendt veterinært. Dette gør studier af hundenes tumorbiologi og afprøvning af terapi rettet mod den enkelte patients tumorgenotype yderst relevante [8-10].

For lægemidler og sporstoffer, der er rettet eksempelvis mod specifikke receptorer eller lignende, er det dog nødvendigt at validere, om den pågældende receptor er udtrykt i den undersøgte cancerform hos hunde, samt ikke mindst at identificere, om der er reaktivitet med det undersøgte sporstof eller lægemiddel, der er udviklet med henblik på anven-

Postoperativ radioterapi til en hund med et recidiverende bløddels-sarkom. Muligheden for at tilbyde veterinære patienter radioterapi er opstået som følge af samarbejdet mellem Københavns Universitet og Rigshospitalet.



delse hos mennesker [11]. Tilgængeligheden af kommercielle genekspressionsanalyser og proteomiske analyser, der er udviklet til hunde, har gjort det muligt at undersøge for mange forskellige potentielle *targets* før afprøvning af lægemidler og sporstoffer hos den veterinære cancerpatient [5]. For eksempel er der rapporteret om mere end 90% homologi for tumorigenerne Erb-1 og -2 mellem hund og mennesker, samt fundet krydsreaktivitet mellem humane antistoffer og hundens Erb-1- og -2-antigener, og hunden vil dermed kunne fungere som en spontan komparativ model for evalueringen af Erb-1- og -2-targeterende lægemidler [12].

I forbindelse med udvikling og evaluering af sporstoffer og lægemidler vil den større sammenlignelighed mellem farmakokinetik og -dynamik mellem hunde og mennesker ligeledes være gavnlig. Der kan dog ikke foretages en direkte translation af sådanne data fra hunde til mennesker, men hundens leverenzymhomologi og metaboliseringshastighed er dog generelt mere lig den humane end de eksperimentelle modeller i mus [13, 14]. Dette afspejles eksempelvis i den lange tradition for at bruge raske beaglehunde som toksikokinetisk dyremodel i lægemiddeludvikling [4]. Hundes størrelse gør desuden, at de kan undergå diagnostiske og terapeutiske procedurer målrettet mennesker [15, 16].

Hundes relativt kortere livslængde eliminerer risikoen for mulige sene bivirkninger i relation til undersøgelser og behandlinger, der gør brug af ioniserende stråling og sporstoffer, herunder PET, SPECT og CT.

Hundens genom var endeligt kortlagt i 2005 [17]. I denne forbindelse er der fundet langt større overensstemmelse mellem ekspresion og forekomst af cancerassocierede gener for hunde og mennesker end for mennesker og mus [5]. Dette indikerer, at information, der er opnået i hunde, delvist kan overføres og appliceres humant, herunder f.eks. fund af biomarkører [15]. Tilgængeligheden af hundens genom har føjet et nyt perspektiv til den komparative onkologi, idet der er mulighed for at lokalisere specifikke gener, der indgår i udviklingen af bestemte cancerformer [18, 19]. Cancerformer, der hyppigt kommer til udtryk hos bestemte relativt indavlede racer, giver mulighed for at kortlægge de involverede gener med et begrænset antal hunde [5]. Håbet er, at analyse af de associerede gener hos hund vil kunne medføre større forståelse for den humane patogenese af den samme sygdom [20-22].

Dyreejere opfatter i dag i vid udstrækning deres kæledyr som fuldgældige familiemedlemmer og ønsker derfor at forlænge dyrenes liv og forbedre deres livskvalitet, trods en diagnose om uhelbredelig cancer.



FAKTABOKS

Der er brug for en forbedret klinisk cancermodel, der kan bygge bro mellem eksperimentelle modeller og de første kliniske afprøvninger hos mennesker.

De store ligheder mellem udvikling og forløb af cancer hos mennesker og hunde gør, at metoder og behandlinger udviklet i eksperimentelle modeller kan evalueres realistisk hos hunde, inden de går videre til de tidlige faser af kliniske forsøg.

I et forskningssamarbejde på Københavns Universitet og Rigshospitalet tager man udgangspunkt i implementeringen af den veterinære cancerpatient som model for human cancer.

Samarbejdets fokusområder er molekylær billedannelse med nye sporstoffer til PET, tumorbiologi og radioterapi i solide tumorer.

Resultaterne fra projekterne har tilføjet væsentlig viden, der vil understøtte den fremtidige kliniske anvendelse af de undersøgte sporstoffer til kræftpatienter på Rigshospitalet.

Da cancer er angivet som dødsårsag hos 15% af danske hunde generelt [23] og helt op til 42% hos enkelte hunderacer [24], er der potentielt en stor gruppe af veterinære cancerpatienter, der har brug for optimal cancerbehandling og kan medvirke i den komparative onkologiske forskning i Danmark.

ET KOMPARATIVT SAMARBEJDE I DANMARK

Det amerikanske National Cancer Institute's Center for Cancer Research oprettede i 2003 et Comparative Oncology Program med fokus på spontan cancer hos hunden som forbedret model for human cancer. Formålet med programmet var og er at koordinere kliniske forsøg på veterinærhospitalet over hele USA til gavn for både veterinære og humane patienter. Resultaterne bruges til design og planlægning af humane, kliniske fase 1- og 2-forsøg [11].

I 2007 fulgte Danmark efter med et nyskabende forskningssamarbejde mellem det tidligere Institut for Mindre Husdyrssygdomme, KU Life, Radioterapiklinikken og Klinik for Klinisk Fysiologi, Nuklearmedicin og PET på Rigshospitalet samt Cluster for Molecular Imaging, SUND, Københavns Universitet.

Samarbejdet tog udgangspunkt i de forskningsmæssige muligheder og perspektiver, som de involverede parter så, ved at indføre hunden som model for human cancer.

Samarbejdsprojekterne er bygget op omkring muligheden for at tilbyde hundene *state of the art*-diagnostik og behandling, samtidig med at de indgår i forskningsprojekter, der har til formål at forbedre behandling og diagnostik af såvel dyr som mennesker. Humane patienter får hurtigere gavn af ny og bedre diagnostik og behandling, og hundene får gavn af behandling af høj kvalitet samt metoder, der ellers ikke er veterinært tilgængelige i Danmark.

Projekterne er primært fokuseret på avanceret billeddiagnostik, tumorbiologi og radioterapi af solide tumorer. Der bygges oven på resultater, der er

opnået i eksperimentelle modeller, og projekterne fungerer derved som et bindeled til efterfølgende kliniske forsøg.

Hundene kan være henvist fra dyrlæger over hele landet og vil inden projektstart blive visiteret på Universitetshospitalet for Familiedyr ved Institut for Klinisk Veterinær- og Husdyrvidenskab. En vigtig forudsætning for udførelse af projekterne er, at de involverede hunde har en behandlingsmæssig fordel ved at deltage og har en god livskvalitet under forløbet.

Det første fælles ph.d.-projekt omhandlede molekylær billeddannelse med ^{64}Cu -diacetyl-bis (N4-methylthiosemicarbazon) (ATSM) og fluordeoxyglukose (FDG)-PET/CT og dynamisk kontrastforstærket perfusions-CT (DCE-pCT) i spontane solide hundetumorer.

Projektets fokus var ikkeinvasiv påvisning af tumorhypoksi, der øger malignitet, medfører terapiresistens og fører til en dårligere prognose [25]. Dette har stor interesse for forskningsfeltet med henblik på udvikling af nye metoder til bedre terapiplanlægning baseret på tumorhypoksi.

I projektet blev brugen af FDG-PET, markør for glykolytisk aktivitet, og ^{64}Cu -ATSM-PET, hypoksiamarkør anvendt til hunde, og Cu-ATSM's tidsafhængighed fra markørinjektion til skanning undersøgt. Samtidig evalueredes eventuelle spatiale overlap mellem FDG, Cu-ATSM og DCE-pCT [26, 27], og Cu-ATSM blev vurderet som hypoksiamarkør i forhold til immunhistokemi med pimonidazol [28]. Resultaterne fra projektet har tilføjet væsentlig viden om brugen af radiomarkørerne, hvilket vil understøtte den fremtidige kliniske anvendelse af Cu-ATSM-PET hos kræftpatienter på Rigshospitalet.

Sideløbende hermed er to andre ph.d.-projekter påbegyndt. I det ene undersøger og sammenligner man *dose painting* (intensitetsmoduleret radioterapi baseret på molekylær billeddannelse) med FDG- og Cu-ATSM-PET/CT. Formålet er at undersøge muligheden for at eskalere dosis intratumoralt til potentielt radioresistente områder for at opnå en bedre lokal tumorkontrol. Der sammenlignes stråleplaner, der er baseret på hundenes tumor-PET'er, hvor stråledosis øges lokalt i tumoren afhængigt af optaget af FDG og Cu-ATSM. I tidligere studier har man fundet en sammenhæng mellem fordelingen af FDG og lokal tumorrecidiv [29], og at et højt intratumoralt optag af Cu-ATSM var forbundet med en dårligere prognose [30]. Også dette studie kan få direkte betydning for, hvordan man vil anvende Cu-ATSM og FDG i den fremtidige stråleplanlægning for humane cancerpatienter.

I det andet af de igangværende ph.d.-studier undersøges genekspression i hundetumorer i forhold til optaget af PET sporstofferne FDG, Cu-ATSM og FLT

(proliferationsmarkør). Formålet er at øge den nuværende viden om radiomarkørerne og deres intratumorale optag. Endvidere evalueres sammenhængen mellem optag af sporstof og de molekyler *targets* i spontane tumorer med intratumoral heterogenitet og cancercelle-stroma-interaktion. Dette er ikke muligt i små implanterede xenografttumorer i eksperimentelle modeller.

Sideløbende udføres der flere andre mindre projekter, hvor der ligeledes gøres brug af de unikke muligheder, som hundemodellen giver.

Samarbejdet mellem afdelingerne blev igangsat med baggrund i ønsket om at etablere viden med henblik på bedre at kunne planlægge efterfølgende humane kliniske forsøg bl.a. på Rigshospitalet og samtidig tilbyde bedre diagnostik og behandling af hundecancerpatienterne. Indtil videre har vi fundet, at samarbejdet har vist sig særdeles værdifuldt, og der er opnået væsentlig ny viden om brugen af de nævnte PET-sporstoffer. Viden, der vil være af direkte værdi, når PET-sporstofferne efterfølgende kommer i kliniske anvendelser eller indgår i forsøg og dermed i sidste ende bliver til gavn for kræftpatienterne.

KORRESPONDANCE: *Betina Børresen*, Institut for Klinisk Veterinær- og Husdyrvidenskab, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet, Dyrlægevej 16, 1870 Frederiksberg C. E-mail: bb@sund.ku.dk

ANTAGET: 10. april 2013

PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK: 29. juli 2013

INTERESSEKONFLIKTER: ingen. Forfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

LITTERATUR

- Kamb A, Wee S, Lengauer C. Why is cancer drug discovery so difficult? *Nat Rev Drug Discov* 2007;6:115-20.
- Kola I, Landis J. Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? *Nat Rev Drug Discov* 2004;3:711-5.
- Peterson JK, Houghton PJ. Integrating pharmacology and in vivo cancer models in preclinical and clinical drug development. *Eur J Cancer* 2004;40:837-44.
- Gordon IK, Khanna C. Modeling opportunities in comparative oncology for drug development. *ILAR J* 2010;51:214-20.
- Paoloni M, Khanna C. Translation of new cancer treatments from pet dogs to humans. *Nat Rev Cancer* 2008;8:147-56.
- Porrello A, Cardelli P, Spugnini EP. Pet models in cancer research: general principles. *J Exp Clin Cancer Res* 2004;23:181-93.
- Khanna C, Lindblad-Toh K, Vail D et al. The dog as a cancer model. *Nat Biotechnol* 2006;24:1065-6.
- Rivera P, Melin M, Biagi T et al. Mammary tumor development in dogs is associated with BRCA1 and BRCA2. *Cancer Res* 2009;69:8770-4.
- Pang LY, Argyle DJ. Using naturally occurring tumours in dogs and cats to study telomerase and cancer stem cell biology. *Biochim Biophys Acta* 2009;1792:380-91.
- Goodstadt L, Ponting CP. Phylogenetic reconstruction of orthology, paralogy, and conserved synteny for dog and human. *PLoS Comput Biol* 2006;2:e133.
- Gordon I, Paoloni M, Mazcko C et al. The Comparative Oncology Trials Consortium: using spontaneously occurring cancers in dogs to inform the cancer drug development pathway. *PLoS Med* 2009;6:e1000161.
- Singer J, Weichselbaumer M, Stockner T et al. Comparative oncology: ErbB-1 and ErbB-2 homologues in canine cancer are susceptible to cetuximab and trastuzumab targeting. *Mol Immunol* 2012;50:200-9.
- Bogaards JJ, Bertrand M, Jackson P et al. Determining the best animal model for human cytochrome P450 activities: a comparison of mouse, rat, rabbit, dog, micropig, monkey and man. *Xenobiotica* 2000;30:1131-52.
- Mack GS. Clinical trials going to the dogs: canine program to study tumor treatment, biology. *J Natl Cancer Inst* 2006;98:161-2.
- Paoloni MC, Khanna C. Comparative oncology today. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2007;37:1023-32.
- Hansen K, Khanna C. Spontaneous and genetically engineered animal models; use in preclinical cancer drug development. *Eur J Cancer* 2004;40:858-80.
- Lindblad-Toh K, Wade CM, Mikkelsen TS et al. Genome sequence, comparative

- analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature* 2005;438:803-19.
18. Stoica G, Levine J, Wolff J et al. Canine astrocytic tumors: a comparative review. *Vet Pathol* 2011;48:266-75.
 19. Briggs J, Paoloni M, Chen QR et al. A compendium of canine normal tissue gene expression. *PLoS One* 2011;6:e17107.
 20. Dickinson PJ, LeCouteur RA, Higgins RJ et al. Canine spontaneous glioma: a translational model system for convection-enhanced delivery. *Neuro Oncol* 2010;12:928-40.
 21. Thomson SA, Kennerly E, Olby N et al. Microarray analysis of differentially expressed genes of primary tumors in the canine central nervous system. *Vet Pathol* 2005;42:550-8.
 22. Thomas R, Duke SE, Wang HJ et al. 'Putting our heads together': insights into genomic conservation between human and canine intracranial tumors. *J Neurooncol* 2009;94:333-49.
 23. Proschowsky HF, Rugbjerg H, Ersbøll AK. Mortality of purebred and mixed-breed dogs in Denmark. *Prev Vet Med* 2003;58:63-74.
 24. Nielsen L, Andreasen SN, Andersen SD et al. Malignant histiocytosis and other causes of death in Bernese mountain dogs in Denmark. *Vet Rec* 2010;166:199-202.
 25. Nordmark M, Bentzen SM, Rudat V et al. Prognostic value of tumor oxygenation in 397 head and neck tumors after primary radiation therapy. An international multi-center study. *Radiother Oncol* 2005;77:18-24.
 26. Hansen AE, Kristensen AT, Law I et al. Multimodality functional imaging of spontaneous canine tumors using (64)Cu-ATSM and (18)FDG PET/CT and dynamic contrast enhanced perfusion CT. *Radiother Oncol* 2011;102:424-8.
 27. Hansen AE, McEvoy F, Engelholm SA et al. FDG PET/CT imaging in canine cancer patients. *Vet Radiol Ultrasound* 2011;52:201-6.
 28. Hansen AE, Kristensen AT, Jørgensen JT et al. (64)Cu-ATSM and (18)FDG PET uptake and (64)Cu-ATSM autoradiography in spontaneous canine tumors: comparison with pimonidazole hypoxia immunohistochemistry. *Radiat Oncol* 2012;7:89.
 29. Soto DE, Kessler ML, Piert M et al. Correlation between pretreatment FDG-PET biological target volume and anatomical location of failure after radiation therapy for head and neck cancers. *Radiother Oncol* 2008;89:13-8.
 30. Dehdashti F, Grigsby PW, Lewis JS et al. Assessing tumor hypoxia in cervical cancer by PET with 60Cu-labeled diacetyl-bis(N4-methylthiosemicarbazone). *J Nucl Med* 2008;49:201-5.

ADHD hos børn og voksne

Per Hove Thomsen¹, Kerstin J. Plessen^{2,3} & Tine Houmann^{2,3}

Igennem de seneste år er antallet af børn og voksne, der bliver diagnosticeret med *attention deficit hyperactivity disorder* (ADHD) steget markant. Blandt børne- og ungdomspsykiatriske patienter i Danmark får ca. 25% en ADHD-diagnose.

ADHD er karakteriseret ved symptomer inden for tre kerneområder: opmærksomhedsvanskeligheder, hyperaktivitet og impulsivitet (**Tabel 1**).

Ifølge DSM-IV-diagnosekriterierne for ADHD skal der være mindst seks symptomer for opmærksomhedsvanskeligheder eller seks symptomer for hyperaktivitet og impulsivitet til stede, for at diagnosen kan stilles [1]. Symptomerne skal være til stede i mindst seks måneder og have et sådant omfang, at de forstyrrer barnets funktion, og de skal være inkonsistente med barnets biologiske alder. I ICD-10 benævnes tilstanden hyperkinetisk forstyrrelse (F90), og prævalensen er lavere end i det amerikanske system, da der kræves, at symptomer fra alle tre domæner er til stede, før man kan stille diagnosen [2].

Symptomerne skal komme til udtryk i forskellige situationer, for at udelukke at barnets uro og opmærksomhedsvanskeligheder har andre årsager (f.eks. utryghed i skolen, indlæringsproblemer eller disharmoni i hjemmet). Symptomerne skal have medført funktionspåvirkning inden syvårsalderen og må ikke kunne forklares bedre på anden måde.

ADHD manifesterer sig i de tidlige leveår. Prognosen er forskellig, og for dem, som fortsat har ADHD i ungdomsår og voksenalder, ændrer sympto-

merne sig noget [3]. Blandt andet bliver den udtalte hyperaktivitet mindsket og ofte erstattet af en indre uro og rastløshed. Under halvdelen af patienterne ser ud til at klare sig godt i ungdoms- og voksenlivet [4, 5]. De resterende har fortsat vanskeligheder op i voksenalderen. Der er generelt øget risiko for manglende uddannelse, sociale vanskeligheder, kriminalitet og rusmiddelmisbrug samt en nedsat livskvalitet.

Børn, unge og voksne med ADHD har vanskeligheder med de såkaldte eksekutive funktioner, dvs. store problemer med at skabe sig overblik og struktur samt vanskeligheder med planlægning af aktiviteter. Arbejdshukommelsen er hos de fleste forringet, og for mange gælder, at de har en dårlig tidsfornemmelse. Det gør det svært for dem at planlægge dagligdags aktiviteter, og for børn betyder det ofte store indlæringsmæssige og sociale vanskeligheder; for unge og voksne betyder det problemer med fastholdelse i uddannelsessystemet.

EPIDEMIOLOGI

I undersøgelser er der ifølge ICD-10-kriterier angivet en prævalens på 2-3% af skolebørn. Der ses flere drenge end piger [6]. Antallet af diagnosticerede voksne er øget betragteligt gennem de senere år, og her ses lidt flere kvinder end mænd med diagnosen.

UDREDNING OG DIAGNOSTIK

I Danmark er i 2008 udgivet et referenceprogram, som beskriver udredning og behandling af ADHD hos



STATUSARTIKEL

- 1) Børne- og ungdomspsykiatrisk Center, Aarhus Universitetshospital, Risskov
- 2) Børne- og Ungdomspsykiatrisk Center, Region Hovedstaden
- 3) Institut for Klinisk Medicin, SUND, Københavns Universitet

Ugeskr Læger
2014;176:V11120664