

# Effekt af akupunktur på cytokinniveauer hos patienter diagnosticeret med attakvis multipel sclerose

## Baggrund

Multipel sclerose (MS) er en kronisk inflammatorisk demyeliniserende autoimmun sygdom i centralnervesystemet. MS starter sædvanligvis i 20 til 40 års alderen, og er i sin naturlige udvikling af progredierende karakter. Trods udvikling af specifik medicinsk profylaktisk behandling resulterer sygdommen ofte i mange år med øget tab af funktionsevnen og dårligere livskvalitet. I Danmark er der 14.500 personer, der er diagnosticeret med MS, og med en incidens på 600 pr år, er prævalensen stigende (1).

80 % af patienterne har ved sygdomsdebut såkaldt attakvis sclerose med vekslende sygdomsangreb og neurologiske udfaldssymptomer samt remission over tid. 60 % af patienterne med attakvis sclerose overgår efter 10-20 års forløb til den sekundære progressive fase med gradvis forværring og vedvarende funktionsnedsættelse/handicaps. Allerede fra tidspunktet for sygdomsdebut har patienterne varierende tegn og symptomer på sygdommen med fysiske og neuropsykologiske forstyrrelser, incl. påvirket gang-/balancefunktion samt kognitive, energimæssige og psykiske vanskeligheder, hvilket kan sætte store begrænsninger for at klare hverdagen. Hos de resterende 20 % af patienterne debuterer sygdommen i den primære progressive form, hvor den gradvise og vedvarende funktionsnedsættelse sætter ind fra sygdomsdebut (2-4).

Medicinsk behandling kan for en person med attakvis MS bestå af både sygdomsmodificerende behandling og symptombehandling (5). Den sygdomsmodificerende behandling til attakvis sclerose kan delvis forhindre den progressive udvikling med tiltagende neurodegeneration, men den kan ikke helbrede sygdommen og behandlingen kan have ugunstige bivirkninger (4).

Blandt andet på grund af begrænset effekt af medicinsk behandling, er der et stort antal af patienter med MS, som opsøger alternativ behandling (6-8). En spørgeskemaundersøgelse publiceret i 2013 viste, at blandt 3361 medlemmer af Scleroseforeningen, havde 51,8 % af patienterne benyttet alternativ behandling indenfor de seneste 12 måneder (9). Akupunktur havde den største andel af brugere blandt ikke-orale, komplementære behandlingsformer (10).

### *Akupunktur.*

Akupunktur er en traditionel kinesisk behandlingsmetode, der har været anvendt i Østen i mere end 2000 år. I vesten har akupunktur været anvendt i stigende grad siden 1970'erne, primært som supplement til den konventionelle behandling, og i Danmark har 25 % af befolkningen på et eller andet tidspunkt anvendt akupunktur (11).

Et systematisk review fra 2014 (12) identificerede 15 studier, som undersøgte forskellige former for akupunkturs effekt på MS. Hovedparten af de rapporterede studier indikerede, at akupunktur kan forbedre livskvalitet og lindre fatigue og smerte hos MS-patienter, men reviewet konkluderede også, at flertallet af de inkluderede studier havde mangelfulde studiedesigns. Ingen af disse studier målte på biologiske parametre i mennesker.

### *Cytokiner og inflammation.*

Cytokiner er proteiner, der har specifikke virkninger på immuncellernes interaktioner og kommunikation. Nogle cytokiner er pro-inflammatoriske, mens andre er anti-inflammatoriske. MS er en sygdom, hvor en ubalanceret overvægt af pro-inflammatoriske cytokiner i centralnervesystemet synes at spille en afgørende rolle for sygdommens opståen, udvikling og forløb. Flere studier har vist sammenhænge

mellem pro-inflammatoriske cytokin-niveauer i blod og cerebrospinalvæske hos MS-patienter og sygdomstilstand (13-15). Nogle af de medicinske behandlingsformer, som anvendes af den etablerede lægevidenskab, baseres på stoffer, der via deres fremmende effekt på anti-inflammatoriske cytokiner har en gunstig effekt på forløbet af MS (16-18).

#### *Akupunktur og cytokiner*

Flere studier indikerer, at akupunkturbehandling nedbringer niveauet af pro-inflammatoriske cytokiner i blodet hos visse patientgrupper (19-22). En teori bag denne effekt er, at der er en interaktion mellem cytokinniveauer og endorfinniveau, og at akupunkturbehandlingens gavnlige effekt på endorfinniveauet påvirker niveauerne af cytokiner i blodet (23). Effekten af akupunktur på cytokinniveauer er endnu ikke undersøgt blandt mennesker med MS.

## Formål

Projektets formål er at undersøge, om akupunktur kan have en effekt på mennesker med attackvis multipel sclerose. Dette sker ved

1. at undersøge om, og i hvilken grad, akupunktur påvirker niveauet af udvalgte cytokiner i blodet hos mennesker med MS
2. at undersøge hvor vidt en eventuel effekt af akupunktur målt på cytokinniveauer hænger sammen med eventuelle ændringer i helbredsrelateret livskvalitet

Gennem måling af biologiske parametre (ændringer i cytokinniveauer) skal studiet således undersøge, om tidligere fund af positive, subjektivt målte effekter af akupunkturbehandling, kan understøttes af et mere objektivt effektmål.

#### *Hypotese*

Baseret på erfaringer fra studier af akupunkturs effekt på cytokinniveauer hos mennesker med andre sygdomme (20-22, 24), er projektets hypotese, at der i forbindelse med akupunkturbehandlingerne ses en ændring i interventionsgruppens cytokinniveauer, som ikke genfindes hos to kontrolgrupper, og at der ses en sammenhæng mellem ændringer i cytokinniveauer og helbredsrelateret livskvalitet målt via validerede, MS-specifikke spørgeskemaer.

## Materiale og metode

#### *Design*

Projektet er et randomiseret, kontrolleret klinisk studie til sammenligning af rigtig akupunkturbehandling med Sham-akupunktur og en kontrolgruppe. Forsøget er blindet for forsøgsparticipanterne og forsker (den der udtager blodprøver og udfører analyser af disse), men ikke for akupunktørerne.

Deltagerne randomiseres til én af tre grupper:

1. Interventionsgruppe: Modtager akupunkturbehandling, som sigter på at nedbringe inflammationstilstandene i kroppen.
2. Sham-akupunkturgruppe: Modtager en sham-akupunkturbehandling, som foregår på samme måde som for interventionsgruppen, bortset fra at nålene ikke penetrerer huden.
3. Referencegruppe: Treatment as usual, dvs. modtager ingen akupunkturbehandling.

For alle deltagerne måles cytokinniveauerne ved forsøgets start (inden akupunkturbehandlingen påbegyndes), samt efter henholdsvis 2, 4 og 8 uger.

Formålet med at anvende en sham-akupunkturgruppe er at undersøge, i hvilken grad en evt. effekt af akupunkturbehandlingerne kan tilskrives andre forhold end penetrationen af nåle i bestemte punkter på kroppen. En indirekte effekt kan fx udløses af deltagerens forventning til akupunkturbehandlingen, af selve behandlingssituationen, eller af den fysiske stimulation af kroppen, som ligger ud over nåle-penetrationen (25).

I dette studie blindes deltagerne gennem anvendelse af sham-nåle, som anvendes på de rigtige punkter, men som ikke penetrerer huden (26).

Ved at inkludere en referencegruppe kan der kontrolleres for udsving i cytokinniveauer, som kan tilskrives andre forhold end akupunkturbehandlingen eller sham-akupunkturbehandlingen (fx årstidsvariation).

#### *Blinding af evaluator/forsker*

Alle deltagerne tildeles et projektnummer/en kode, som bl.a. anvendes til identifikation af blodprøverne og spørgeskemaerne. Nøglen, der forbinder koden med deltagerens navne, opbevares af afdelingsleder Lasse Skovgaard i Scleroseforeningen. Forsker Kirsten Hanehøj, som udtager og analyserer blodprøverne og laver de statistiske analyser, kender ikke nøglen til denne kode, og ved således ikke, hvilken gruppe de enkelte deltagere tilhører.

#### *Validering af blinding*

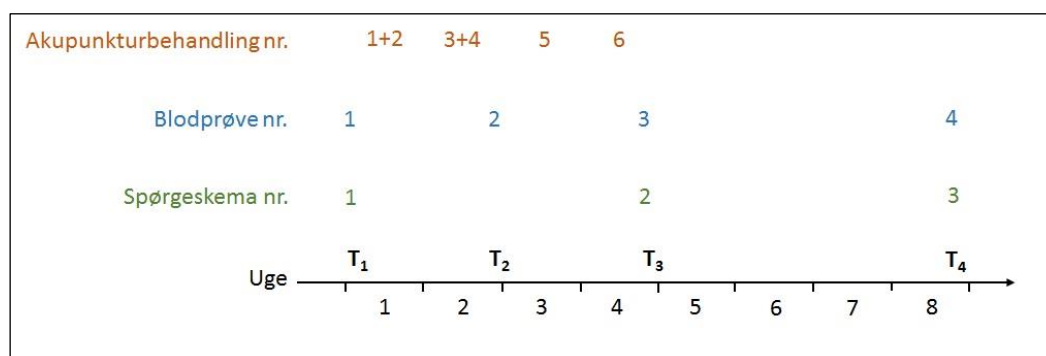
For at validere blindingen spørges deltagerne i interventions- og sham-gruppen efter forsøget, om de selv tror, de har fået rigtig eller sham-akupunktur.

## Forsøgsplan

### Akupunkturbehandling:

Der udføres 2 akupunkturbehandling/sham-behandling om ugen i de første 2 uger, og efterfølgende vedligeholdes behandlingen en gang om ugen i 2 uger. I alt modtager deltagerne 6 akupunktur/sham-akupunktur-behandling over 4 uger. Der er tidligere set effekter af akupunktur på cytokin-niveauer, både efter en enkelt behandling (22) og efter et forløb på 4 uger (21).

Figur 1. Tidslinje



Af hensyn til akupunktørernes kapacitet starter deltagerne ikke på deres akupunkturforløb samtidig, men behandlingerne igangsættes løbende over nogle uger. Deltagerne vil derfor være på forskellige stadier i forsøgsperioden, og resultaterne behandles først, når alle har været igennem hele forløbet.

I dette studies akupunkturbehandlinger indgår dels en række standardiserede akupunkturpunkter, som bestemmes ud fra tilgængelig viden om hvilke punkter, der kan have betydning for sænkning af inflammationsniveauet, og dels en række punkter, som tilpasses individuelt. Kombinationen af standardiserede og individuelt fastlagte akupunkturpunkter er set i et tidligere studie af akupunktur og cytokin-niveauer (21).

#### Blodprøver og cytokinmålinger:

Effekten på cytokinniveauerne måles efter de første 2 ugers intensive behandling, samt efter yderligere 2 ugers vedligeholdelses behandling. Endelig undersøges, i hvilket omfang en eventuel effekt kan genfindes 4 uger efter behandlingsophør.

Der tages således en blodprøve fire gange i løbet af forsøgsperioden (til tidspunkterne T1, T2, T3 og T4). Ved hver blodprøve udtages 5 ml venøst blod. Blodprøverne tages af projektleder Kirsten Hanehøj, der er uddannet jordemoder og har 10 års erfaring med udtagning af blodprøver og kender til forholdsregler til sikring mod infektion. Første blodprøve tages få dage før behandlingens start (tidspunktet T1), herefter tages en prøve dagen efter fjerde behandling to uger inde i behandlingsperioden (tidspunktet T2), og den tredje prøve tages dagen efter sidste akupunkturbehandling (tidspunktet T3). Til slut tages en blodprøve som follow-up en måned efter behandlingsafslutning (tidspunktet T4). Prøverne tages på samme tidspunkt af døgnet for at minimere effekten af døgnudsving i cytokin-niveauerne. Der oprettes en forskningsbiobank til opbevaring af blodprøverne (se nærmere beskrivelse længere nede i forsøgsprotokollen). Deltagerne informeres om, at forholdene omkring prøvetagning skal være så ensartede som muligt vedr. måltider, søvn og andre fysiske forhold.

Det primære effektmål i interventionen er ændringer i blodplasma (fald eller stigninger) af en eller flere inflammatoriske cytokiner: IFN $\gamma$ , IL-12p70, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  og IL-6, og antiinflammatoriske cytokiner: IL-2, IL-4 og IL-8. Disse cytokiner har i store screeningsundersøgelser vist signifikant opregulerede ( $p < 0,05$ ) (IL-8 dog nedreguleret) hos MS-patienter i forhold til cytokinniveauet hos raske aldersmatchede personer (14, 15).

#### Selvoplevede effekter af interventionen:

Selvurderet effekt af behandlingen måles ved hjælp af de validerede, sclerosespecifikke spørgeskemaer FAMS (Functional Assessment of Multiple Sclerosis) (27, 28) og MSIS-29 (Multiple Sclerosis Impact Scale) (29, 30). Spørgeskemaerne har henholdsvis 44 og 29 spørgsmål og giver begge et samlet mål for helbredsrelaterede livskvalitet gennem spørgsmål om mobilitet, symptomer, emotionel velbefindende, kognitive funktioner, socialt og familiemæssigt velbefindende mm (17, 18, 31). I FAMS-skemaet besvares hvert spørgsmål på en 5-punkts Likert skala (slet ikke, en lille smule, i nogen grad, en hel del, meget), og med en relativ simpel scoringsalgoritme scores hvert svar med en værdi mellem 0 – 4. På baggrund af scorerne kan der udregnes en samlet score, som varierer mellem 0-176. Spørgsmålene i MSIS-29 er opdelt i en fysisk del (20 spørgsmål) og en psykologisk del (9 spørgsmål), hvor hvert spørgsmål omregnes til en værdi mellem 1 og 4. Den samlede score for de fysiske spørgsmål kan således variere mellem 20 og 80, og for de psykologiske spørgsmål mellem 9 og 36 (31). For begge skemaer gælder, at en samlet høj score angiver et godt funktionsniveau. Foruden de to validerede MS-skemaer undersøges deltagernes selvurderede helbred på en VAS-score (32). Spørgeskemaerne udfyldes elektronisk tre gange i løbet af forsøgsperioden (til tidspunkterne T1, T3 og T4). De selvoplevede effekter udgør studiets sekundære effektmål.

## Deltagere

### Sample size

Deltagerantallet i dette studies tre grupper baseres på en sample size beregning, hvor der tages udgangspunkt i en forventet effekt (procentvis ændring i cytokinniveauer) fra basisniveauet ( $T_1$ ) til de efterfølgende follow-ups ( $T_2$ ,  $T_3$  og  $T_4$ ) som følge af akupunkturbehandlingen, og tages højde for den intrapersonelle variation af cytokinniveauerne.

Tidligere studier har undersøgt effekten af akupunktur på cytokinniveauer blandt andre patientgrupper end MS (patienter med kronisk hovedpine, allergisk rhinitis og allergisk astma). Disse studier har fundet ændringer af cytokinerne IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 og TNF- $\alpha$  på mellem 5 % og 50 % som følge af akupunkturbehandlinger (20-22).

Andre studier har vist, at variationen af det enkelte cytokinniveau over tid hos samme (raske) donor under standardbetingelser (formiddag, fastende) er 5-10 % (33-35). Der er ikke udført lignende serielle cytokinmålinger hos MS-patienter.

For at tage højde for evt. større intrapersonel usikkerhed for MS-patienter (end de 5-10 % fundet raske donorer) og en mindre effekt af behandlingen hos MS-patienter (end de op til 50 % der er fundet hos andre patientgrupper) er beregningen lavet for en intrapersonel spredning på 5-15% og en ændring i effekt på 15-25 % (Tabel 1). Med en spredning i cytokinniveauet på 5-15 % for gentagne målinger indenfor samme person vil der være en spredning på differensen mellem to cytokinmålinger 7,07-21,21 %.

Sample size beregningerne baseres på et signifikansniveau,  $\alpha$  på 5 % og en styrke,  $1-\beta$  på 80 %.

Tabel 1: Sample size beregning af antal deltagere i hver gruppe for forskellige kombinationer af ændring i cytokin-niveau i forhold til baseline og spredning på gentagne målinger for samme person.

|                               |                 | Ændring i % i forhold til baseline |     |     |
|-------------------------------|-----------------|------------------------------------|-----|-----|
| Spredning i % indenfor person |                 |                                    |     |     |
| SD (Observation)              | SD (Difference) | 15%                                | 20% | 25% |
| 5                             | 7,07            | 2                                  | 1   | 1   |
| 7,5                           | 10,61           | 4                                  | 2   | 1   |
| 10                            | 14,14           | 7                                  | 4   | 3   |
| 15                            | 21,21           | 16                                 | 9   | 6   |

Antallet af personer med MS, som skal inkluderes i hver af de 3 grupper (Interventionsgruppe, Sham-akupunkturgruppe og referencegruppe) er 16, og for at tage hensyn til evt. bortfald inkluderes 20deltagere i hver gruppe.

De 60 deltagere fordeles ved lodtrækning til en af de tre grupper. Deltagerne i alle grupperne fortsætter med at følge deres sædvanlig behandling, herunder medicinsk behandling, kostplan, træning, fysioterapi mm.

De 60 deltagere skal opfylde følgende *inklusionskriterier*:

- Deltageren skal være diagnosticeret med attakvis multipel sclerose, da denne underdiagnose med sikkerhed er forbundet med forhøjet immunologisk aktivitet, modsat den progressive form, hvor immunologisk aktivitet sandsynligvis spiller en mindre rolle.

- Deltageren skal have selvstændig gangfunktion med eller uden hjælpemidler (hvilket ækvivalerer med et niveau på 0 til og med 6,5 på EDSS-skalaen)
- Deltageren skal have haft sin diagnose i mindst to år, så der er så megen sikkerhed som muligt for, at deltageren har fået den rigtige diagnose og har vænnet sig til at leve med sygdommen.
- Der skal være gået minimum tre mdr. siden sidste attack, idet et attack kan give betydelige udsving i inflammatoriske parametre.
- Hvis deltageren modtager medicinsk behandling for attackvis sclerose, skal han/hun have anvendt samme præparat i minimum tre måneder, så medicinens immunmodulerende effekt har fundet et stabilt leje
- Deltageren skal være over 18 år
- Deltageren skal have mulighed for at følge akupunkturbehandlingsforløbet (2 behandlinger om ugen i de første 2 uger, herefter 1 behandling om ugen i 2 uger, i alt 4 ugers forløb)
- Deltageren skal kunne komme til blodprøvetagning på Panum-instituttet, i Scleroseforeningen (eller evt. et tredje sted) 4 gange i projektperioden.
- Deltageren skal kunne udfylde de elektroniske spørgeskemaer på egen hånd eller med hjælp fra pårørende/bisidder

#### *Eksklusionskriterier*

- Betydende co-morbiditet (udtalt hjertesygdom, diabetes, Mb. Crohn eller anden sygdom), som kan have betydelig indvirkning på immunsystemet og dermed påvirke de inflammatoriske markører
- Må ikke have modtaget akupunkturbehandlinger i de sidste 3 måneder.

#### Information og henvendelse af deltagere:

Information om projektet sker via Scleroseforeningens hjemmeside ([www.scleroseforeningen.dk](http://www.scleroseforeningen.dk)), Scleroseforeningens facebookside (<https://da-dk.facebook.com/Scleroseforeningen/>), lokalafdelinger, Sclerosehospitalet i Haslev og andre medier. Interesserede deltagere henvender sig til den projektansvarlige i Scleroseforeningen via en formular på foreningens hjemmeside eller via mail, hvorefter de får tilsendt skriftligt informationsmateriale med beskrivelse af projektet, herunder formål, metode, risici, oprettelse af forskningsbiobank mm. Ved denne lejlighed fremsendes også broschüren "Forsøgspersoners rettigheder". Endvidere opfordres deltagerne til at læse videnskabsetisk komites broschüre "Før du beslutter dig", som kan downloades fra Scleroseforeningens hjemmeside. Der inviteres til orienteringsmøder, hvor den information, der er givet i det skriftlige materiale vil blive uddybet, og hvor man kan stille spørgsmål til projektet og til deltagelse. Alle tilbydes en personlig face-to-face samtale med projektansvarlig, hvor man kan stille spørgsmål til deltagelse i projektet. De patienter, som efter at have læst informationsmaterialet (og evt. deltaget i et orienteringsmøde) tilkendegiver, at de ønsker at deltage i forsøget, kontaktes pr. telefon af den projekt-ansvarlige for at sikre, at de opfylder inklusionskriterierne. Alle orienteres om, at det er frivilligt at deltage, og at man til enhver tid kan trække sit tilsagn om deltagelse tilbage. Herefter modtager deltagerne en samtykke-erklæring via mail eller brev, som underskrives og returneres.

Efter inklusion registreres alle former for igangværende behandling, inklusive alternativ behandling og behandling for evt. andre tilstande, og det kontrolleres om behandlingerne fortsat følges under og efter forsøget. Ved inklusion til forsøget indhentes desuden oplysninger om deltagernes køn, alder, tid siden sygdomsdebut, tid siden diagnositidspunkt, tid siden sidste attack, rygning, alkoholforbrug, uddannelsesniveau, erhvervssituation, BMI, selvoplevet helbred, symptomniveau, mm.

#### Akupunktører:

Til udførelse af akupunkturbehandlingerne er valgt to akupunktører, der dels er uddannet indenfor den vestlige medicins traditioner (alm. lægeuddannelse) og dels har en grundig kinesisk akupunkturuddannelse,

samt mange års erfaring med udøvelse af akupunktur. Akupunktørerne har begge deres egen klinik og er medlem af det lægefaglige selskab Dansk Medicinsk Akupunktur Selskab. De taler begge dansk. Deltagerne i interventions- og sham-akupunkturgrupperne kan selv vælge, hvem af de to akupunktører, de ønsker at gå hos, afhængigt af geografi, tilgængelighed mm.

#### Forsikring af deltagerne

Forsøgsdeltagernes er dækket af Scleroseforeningens arbejdsskadeforsikring, hvis de kommer til skade i forbindelse med deltagelse i forsøget (transport til og fra behandlinger, blodprøvetagning mm). Hvad angår selve akupunkturbehandlingerne er deltagerne dækket af Lov om klage og erstatningsadgang via akupunktørernes egne patientforsikringer.

## Oprettelse af forskningsbiobank

Fra de indsamlede blodprøver udvindes plasma ved centrifugering, og plasma nedfryses straks til minus 145°C., og opbevares i en forskningsbiobank på Panuminstituttet, Københavns Universitet, Institut for immunologi og mikrobiologi med henblik på analyser senere i forsøgsperioden.

Efter optøning anvendes plasma til at monitorere plasmacytokinerne hos de deltagende patienter vha. et multiplex Mesoscale system. Professor Mogens Helweg Claesson er ansvarlig for analysearbejdet på Panuminstituttet.

Når projektet er helt slut, destrueres blodprøverne, dvs. senest ved udgangen af 2017.

## Bivirkninger, risici og ulemper ved deltagelse i forsøget

Akupunktur er generelt en sikker og bivirkningsfri behandlingsmetode. Der forventes derfor at være meget beskedne risici forbundet med deltagelse i forsøget. Ifølge akupunktører kan der være følgende mindre gener/bivirkninger, der hurtigt forsvinder igen:

Eksempler på mindre bivirkninger er:

- Blå mærker ved de anvendte akupunkturpunkter
- Ubehag ved indstiksstedet.

Mere sjældne typer af bivirkninger kan være:

- Kvalme og utilpashed
- Døsighed
- Opstemthed
- Svimmelhed og besvimelse.

I starten af et behandlingsforløb kan symptomer kortvarigt blive forværret. Akupunktører ser dette som en del af helbredelsesprocessen og ikke som bivirkninger.

I forbindelse med blodprøvetagningen kan opstå mindre blå mærker eller ubehag ved indstiksstedet. Der er en minimal infektionsrisiko ved blodprøvetagningen.

Hvis der mod forventning skulle opstå bivirkninger ud over de omtalte, informeres deltagerne om straks at kontakte den projektansvarlige.



## Statistiske analyser

Det primære effektmål for analyserne er ændringer i plasmaniveauet af cytokinerne IFN $\gamma$ , IL-12p70, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-2, IL-4 og IL-8, og det sekundære effektmål er ændringer i de selvoplevede helbreds faktorer og symptomer målt ved spørgeskemaer.

De statistiske analyser vil teste følgende:

- Den primære analyse af de 8 cytokiner består af en sammenligning af gruppernes ændringer i plasmaniveauer for hvert cytokin fra starttidspunkt, T1 og til hvert af de øvrige tidspunkter (T2, T3 og T4). Analysen foretages ved en variansanalyse. Ændringen fra T1 til hhv. T2, T3 og T4 er outcome. Resultaterne for ændringerne præsenteres ved middelværdier, standard deviation og p-værdi for forskel mellem grupperne. Forudsætningerne for at benytte en variansanalyse undersøges ved residualplots og test for normalfordeling. Hvis ikke forudsætningerne er opfyldt, transformeres effektmålet (såsom log-transformation eller rank-transformation).
- En supplerende analyse foretages for hvert cytokin ved sammenligning af de tre gruppers plasmaniveauer for hvert cytokin for hvert af de fire tidspunkter T1 til T4. Analysen foretages ved en variansanalyse. Resultatet præsenteres ved middelværdier, standard deviation og p-værdi for forskel mellem grupperne. Forudsætningerne for at benytte en variansanalyse undersøges ved residualplots og test for normalfordeling. Hvis ikke forudsætningerne er opfyldt, transformeres effektmålet (såsom log-transformation eller rank-transformation).
- Den primære analyse af de sekundære effektmål foretages ved en sammenligning af ændringerne for gruppernes helbredsrelaterede livskvalitet fra starttidspunkt, T1 til tidspunkterne T3 og T4. Der anvendes en variansanalyse. Forudsætningerne for at benytte en variansanalyse undersøges ved residualplots og test for normalfordeling. Hvis ikke forudsætningerne er opfyldt, transformeres effektmålet (såsom log-transformation eller rank-transformation).
- En supplerende analyse foretages af de sekundære effektmål ved sammenligning af effektmålene mellem de 3 grupper for hvert af de tre tidspunkter T1, T3 og T4. Analysen foretages ved en variansanalyse. Resultatet præsenteres ved middelværdier, standard deviation og p-værdi for forskel mellem grupperne. Forudsætningerne for at benytte en variansanalyse undersøges ved residualplots og test for normalfordeling. Hvis ikke forudsætningerne er opfyldt, transformeres effektmålet (såsom log-transformation eller rank-transformation).
- Korrelation mellem de objektive målinger og de selvrapporterede spørgeskemadata ved beregning af Pearson's og Spearman's korrelationskoefficient.

## Økonomi

Projektet er igangsat på foranledning af Scleroseforeningen. Projektets samlede budget er på 990.688 kr. De primære udgifter er lønudgifter til projektmedarbejdere (projektleder Kirsten Hanehøj, sponsor Lasse Skovgaard og akademisk medarbejder Marie Lynning - alle fra Scleroseforeningen), akupunkturbehandlingerne, transport, analysearbejde og kommunikation.

Den primære finansieringskilde er Sundhedsstyrelsens pulje til forskning i alternativ/komplementær behandling, som har støttet projektet med 850.000 kr. Beløbet fra Sundhedsstyrelsen udbetales til Scleroseforeningen som en fast sum fordelt på 2016 og 2017 med hhv. kr. 190.000,- og kr. 660.000,-

Scleroseforeningen bidrager med det resterende beløb (kr. 140.688,-) i form af frikøb af medarbejdere (Lasse Skovgaard og Marie Lynning), administration og revision.



| <b>BUDGET</b>              | Fra Scleroseforeningen | Fra Sundhedsstyrelsen |
|----------------------------|------------------------|-----------------------|
| Projektledelse/-deltagelse | 115.388                | 391.000               |
| Akupunkturbehandlinger     |                        | 261.000               |
| Materialer og analyser     |                        | 100.000               |
| Transport                  |                        | 86.400                |
| Uddannelse/kurser          |                        | 11.600                |
| Administration/revision    | 25.300                 |                       |
| <b>I alt</b>               | <b>140.688</b>         | <b>850.000</b>        |

Alle akupunkturbehandlinger er gratis for deltagerne, og det er muligt at få tilskud til transport til akupunkturbehandlinger og blodprøvetagning (dog max 120 kr pr gang).

## Organisation

Projektet gennemføres af Scleroseforeningen, som er en patientforening, der arbejder med forskning, oplysning og patientstøtte. Scleroseforeningen har tidligere udført studier af alternative behandlingsformer for mennesker med sclerose, herunder et projekt om kombinationsbehandlinger for mennesker med MS (36) samt en kortlægning af brugen af både konventionelle og alternative behandlinger blandt medlemmer af de nordiske scleroseforeninger (37). Foreningen har ansat cand.scient.san Kirsten Hanehøj, der i samarbejde med Ph.d., chefkonsulent Lasse Skovgaard og akademisk medarbejder Marie Lynning vil være ansvarlig for koordination, udførelse og daglig drift af projektet.

Samarbejdspartner Mogens Helweg Claesson (MHC), Professor Emeritus, Institut for Immunologi og Mikrobiologi, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet, er ansvarlig for udtagning og opbevaring af blodplasma, samt af målinger af cytokin-niveauer i blodplasma i samarbejde med Kirsten Hanehøj.

De to akupunktører (Lian Chen Tving og Jing Sun) er begge medlem af det lægefaglige selskab Dansk Medicinsk Akupunktur Selskab.

Behandling af data og den statistiske analyse foretages af projektleder Kirsten Hanehøj i samarbejde med statistiker Annette Kjær Ersbøll, professor ved Statens Institut for Folkesundhed, SDU.

Der er nedsat en projektstyregruppe, der foruden de ovennævnte samarbejdspartnere består af neurolog Finn Boesen (overlæge på Sclerosehospitalet i Haslev), akademisk medarbejder Marie Lynning (Scleroseforeningen), læge Anna Okholm og patientrepræsentant Jette Schwartz. Projektstyregruppen mødes jævnligt i projektperioden for at justere og koordinere i forhold til næste projekttrin.

## Etiske aspekter

Projektets resultater skal bidrage med ny viden om effekten af akupunkturbehandling på mennesker med MS. Deltagerne vil ved at indgå i projektet således bidrage til at skabe større afklaring om mulighederne inden for alternativ behandling for den patientgruppe, som de selv tilhører. Resultaterne kan muligvis også have betydning for andre patientgrupper med autoimmune, inflammatoriske sygdomme.

Oplysninger om forsøgspersonerne beskyttes efter lov om behandling af personoplysninger og sundhedsloven.

Projektet anmeldes til Videnskabsetisk Komité. Da projektet er et privat forskningsprojekt, der anmeldes til komitésystemet, skal det ikke anmeldes til Datatilsynet.

## Publikationsmæssige forhold

Resultater fra studiet forventes publiceret som to artikler i videnskabelige tidsskrifter. Forslag til titler er som følger:

1. Cytokine levels in the blood of MS patients treated with acupuncture
2. Correlations between cytokine levels in blood of MS patients treated with acupuncture and the patients' self-reported outcomes.

Resultaterne vil herudover blive publiceret gennem Scleroseforeningens medier, der sigter mod at oplyse patienter og behandlere om nyeste viden inden for behandling af MS.

Både positive, negative og inkonklusive resultater vil blive offentliggjort.

## Referenceliste

1. Scleroseforeningen. Scleroseforeningen. Tal på sclerose 2016 [cited 2016. Available from: <https://scleroseforeningen.dk/statistik-om-sclerose>.
2. Debouverie M, Pittion-Vouyovitch S, Louis S, Guillemin F, Group L. Natural history of multiple sclerosis in a population-based cohort. *Eur J Neurol*. 2008;15(9):916-21.
3. Janardhan V, Bakshi R. Quality of life in patients with multiple sclerosis: the impact of fatigue and depression. *J Neurol Sci*. 2002;205(1):51-8.
4. Samkoff LM, Goodman AD. Symptomatic management in multiple sclerosis. *Neurol Clin*. 2011;29(2):449-63.
5. Dolati S, Babaloo Z, Jadidi-Niaragh F, Ayromlou H, Sadreddini S, Yousefi M. Multiple sclerosis: Therapeutic applications of advancing drug delivery systems. *Biomed Pharmacother*. 2017;86:343-53.
6. Yadav V, Shinto L, Bourdette D. Complementary and alternative medicine for the treatment of multiple sclerosis. *Expert Rev Clin Immunol*. 2010;6(3):381-95.
7. Stuifbergen AK, Harrison TC. Complementary and alternative therapy use in persons with multiple sclerosis. *Rehabil Nurs*. 2003;28(5):141-7, 58.
8. Stoll SS, Nieves C, Tabby DS, Schwartzman R. Use of therapies other than disease-modifying agents, including complementary and alternative medicine, by patients with multiple sclerosis: a survey study. *J Am Osteopath Assoc*. 2012;112(1):22-8.
9. Skovgaard L, Nicolajsen PH, Pedersen E, Kant M, Fredrikson S, Verhoef M, et al. People with multiple sclerosis in Denmark who use complementary and alternative medicine—Do subgroups of patients differ? *European Journal of Integrative Medicine*. 2013;5(4):365-73.
10. Skovgaard L, Nicolajsen PH, Pedersen E, Kant M, Fredrikson S, Verhoef M, et al. Use of Complementary and Alternative Medicine among People with Multiple Sclerosis in the Nordic Countries. *Autoimmune Diseases*. 2012;2012:1-13.
11. Christensen AI, Ekholm O, Glumer C, Andreasen AH, Hvidberg MF, Kristensen PL, et al. The Danish National Health Survey 2010. Study design and respondent characteristics. *Scand J Public Health*. 2012;40(4):391-7.
12. Karpatkin HI, Napolione D, Siminovich-Blok B. Acupuncture and multiple sclerosis: a review of the evidence. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2014;2014:972935.
13. Rasouli J, Ciric B, Imitola J, Gonnella P, Hwang D, Mahajan K, et al. Expression of GM-CSF in T cells is increased in multiple sclerosis and is suppressed by IFN- $\beta$  therapy (BA11P.136). *The Journal of Immunology*. 2015;194(1 Supplement):184.18.
14. Martins TB, Rose JW, Jaskowski TD, Wilson AR, Husebye D, Seraj HS, et al. Analysis of proinflammatory and anti-inflammatory cytokine serum concentrations in patients with multiple sclerosis by using a multiplexed immunoassay. *Am J Clin Pathol*. 2011;136(5):696-704.
15. Kallaur AP, Oliveira SR, Colado Simao AN, Delicato de Almeida ER, Kaminami Morimoto H, Lopes J, et al. Cytokine profile in relapsingremitting multiple sclerosis patients and the association between progression and activity of the disease. *Mol Med Rep*. 2013;7(3):1010-20.
16. Hartung HP, Gonsette R, Konig N, Kwiecinski H, Guseo A, Morrissey SP, et al. Mitoxantrone in progressive multiple sclerosis: a placebo-controlled, double-blind, randomised, multicentre trial. *Lancet*. 2002;360(9350):2018-25.
17. Vogelgesang A, Rosenberg S, Skrzipek S, Broker BM, Dressel A. Mitoxantrone treatment in multiple sclerosis induces TH2-type cytokines. *Acta Neurol Scand*. 2010;122(4):237-43.
18. Graber JJ, Ford D, Zhan M, Francis G, Panitch H, Dhib-Jalbut S. Cytokine changes during interferon-beta therapy in multiple sclerosis: correlations with interferon dose and MRI response. *J Neuroimmunol*. 2007;185(1-2):168-74.

19. Zijlstra FJ, van den Berg-de Lange I, Huygen FJ, Klein J. Anti-inflammatory actions of acupuncture. *Mediators Inflamm*. 2003;12(2):59-69.
20. Jeong HJ, Hong SH, Nam YC, Yang HS, Lyu YS, Baek SH, et al. The effect of acupuncture on proinflammatory cytokine production in patients with chronic headache: a preliminary report. *Am J Chin Med*. 2003;31(6):945-54.
21. Joos S, Schott C, Zou H, Daniel V, Martin E. Immunomodulatory effects of acupuncture in the treatment of allergic asthma: a randomized controlled study. *J Altern Complement Med*. 2000;6(6):519-25.
22. Petti FB, Liguori A, Ippoliti F. Study on cytokines IL-2, IL-6, IL-10 in patients of chronic allergic rhinitis treated with acupuncture. *J Tradit Chin Med*. 2002;22(2):104-11.
23. Bonta IL. Acupuncture beyond the endorphin concept? *Med Hypotheses*. 2002;58(3):221-4.
24. Jeong HJ, Kim BS, Oh JG, Kim KS, Kim HM. Regulatory effect of cytokine production in asthma patients by SOOJI CHIM (Koryo Hand Acupuncture Therapy). *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2002;24(2):265-74.
25. White AR, Filshie J, Cummings TM, International Acupuncture Research F. Clinical trials of acupuncture: consensus recommendations for optimal treatment, sham controls and blinding. *Complement Ther Med*. 2001;9(4):237-45.
26. Zhu D, Gao Y, Chang J, Kong J. Placebo acupuncture devices: considerations for acupuncture research. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013;2013:628907.
27. Cella DF, Dineen K, Arnason B, Reder A, Webster KA, Karabatsos G, et al. Validation of the functional assessment of multiple sclerosis quality of life instrument. *Neurology*. 1996;47(1):129-39.
28. Sorensen J, Bay J, Damsgaard T, Heeley E, Rostgaard I, Lovendahl B, et al. Validation of the danish version of functional assessment of multiple sclerosis: a quality of life instrument. *Mult Scler Int*. 2011;2011:121530.
29. Hobart J, Lamping D, Fitzpatrick R, Riaz A, Thompson A. The Multiple Sclerosis Impact Scale (MSIS-29): a new patient-based outcome measure. *Brain*. 2001;124(Pt 5):962-73.
30. Riaz A, Hobart JC, Lamping DL, Fitzpatrick R, Thompson AJ. Multiple Sclerosis Impact Scale (MSIS-29): reliability and validity in hospital based samples. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2002;73(6):701-4.
31. Hawton A, Green C, Telford C, Zajicek J, Wright D. Using the Multiple Sclerosis Impact Scale to estimate health state utility values: mapping from the MSIS-29, version 2, to the EQ-5D and the SF-6D. *Value Health*. 2012;15(8):1084-91.
32. Herdman M, Gudex C, Lloyd A, Janssen M, Kind P, Parkin D, et al. Development and preliminary testing of the new five-level version of EQ-5D (EQ-5D-5L). *Qual Life Res*. 2011;20(10):1727-36.
33. Hofmann JN, Yu K, Bagni RK, Lan Q, Rothman N, Purdue MP. Intra-individual variability over time in serum cytokine levels among participants in the prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer screening Trial. *Cytokine*. 2011;56(2):145-8.
34. Biancotto A, Wank A, Perl S, Cook W, Olnes MJ, Dagur PK, et al. Baseline levels and temporal stability of 27 multiplexed serum cytokine concentrations in healthy subjects. *PLoS One*. 2013;8(12):e76091.
35. Altara R, Manca M, Hermans KC, Daskalopoulos EP, Brunner-La Rocca HP, Hermans RJ, et al. Diurnal rhythms of serum and plasma cytokine profiles in healthy elderly individuals assessed using membrane based multiplexed immunoassay. *J Transl Med*. 2015;13:129.
36. Skovgaard L, Launsø L, Pedersen IK, Bjerre L, Haahr N. Combination Treatment of People with Multiple Sclerosis based on Collaboration between Conventional Healthcare Providers and Alternative Practitioners--Patient Perspectives on Outcomes. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*. 2011;8(1).
37. Skovgaard L. Use and users of complementary and alternative medicine among people with multiple sclerosis in Denmark. *Dan Med J*. 2016;63(1):B5159.